

UNIVERSITÉ DU QUÉBEC

MÉMOIRE PRÉSENTÉ À
L'UNIVERSITÉ DU QUÉBEC À TROIS-RIVIÈRES

COMME EXIGENCE PARTIELLE
DE LA MAÎTRISE EN BIOPHYSIQUE ET BIOLOGIE CELLULAIRES

PAR
RENAUD JEFFREY-GAUTHIER

COUPLAGE NEUROVASCULAIRE LORS DE PROCESSUS RELIÉS À
LA DOULEUR DANS LE CORTEX SOMESTHÉSIQUE PRIMAIRE DU RAT

MAI 2013

Université du Québec à Trois-Rivières

Service de la bibliothèque

Avertissement

L'auteur de ce mémoire ou de cette thèse a autorisé l'Université du Québec à Trois-Rivières à diffuser, à des fins non lucratives, une copie de son mémoire ou de sa thèse.

Cette diffusion n'entraîne pas une renonciation de la part de l'auteur à ses droits de propriété intellectuelle, incluant le droit d'auteur, sur ce mémoire ou cette thèse. Notamment, la reproduction ou la publication de la totalité ou d'une partie importante de ce mémoire ou de cette thèse requiert son autorisation.

REMERCIEMENTS

J'aimerais d'abord remercier mon directeur de maîtrise Dr Mathieu Piché pour son dévouement et, par moment, sa patience. Sa passion pour la recherche et sa quête de la vérité font de lui un chercheur professionnel et intègre.

Je me dois également de souligner l'aide précieuse apportée par mon codirecteur Dr Jean-Paul Guillemot, qui par son expérience et son enseignement m'a permis de développer une expertise en électrophysiologie animale tout en m'inculquant un profond respect de la vie. Nos échanges cordiaux et instructifs m'ont toujours fait avancer dans mon cheminement.

Mes chers collègues étudiants avec lesquels j'ai partagé de beaux moments et certains plus difficiles durant cette maîtrise, Dr Sébastien Houle et Dre Alexandra Ladouceur ont été essentiels à l'élaboration de ce projet. La motivation vient plus facilement avec le plaisir!

J'aimerais également remercier les techniciennes en santé animale de l'UQTR pour leur support quotidien.

Enfin, un merci tout spécial à la Fondation de recherche chiropratique du Québec (FRCQ). Sans votre soutien, et celui de la profession en général, ces projets qui font avancer notre science fondamentale et clinique ne pourraient voir le jour.

AVANT-PROPOS

Le présent projet est né d'une collaboration commencée en 2008 entre le Dr Piché et moi, lors d'un stage d'initiation à la recherche de la FRCQ. Mon intérêt pour la neurophysiologie s'est nourri de la passion du Dr Piché envers ce domaine ainsi que l'importance de la recherche sur ce sujet pour notre profession. Enfin, l'importance de la science fondamentale pour faire avancer certaines bases de la recherche clinique m'a orienté et permis de produire cet ouvrage sur le *couplage neurovasculaire lors des processus liés à la douleur dans le cortex somesthésique primaire du rat*.

Ce travail est le fruit d'une belle collaboration. En effet, les conseils et enseignements des Drs Guillemot et Piché, concernant aussi bien les méthodes électrophysiologiques et chirurgicales que l'approche scientifique, m'ont permis de développer mon autonomie. Mon implication dans ce travail de recherche se situe à la fois dans l'expérimentation, l'analyse des résultats ainsi que leur interprétation et mise en contexte avec la littérature scientifique actuelle.

J'espère que sa lecture vous sera aussi bénéfique que l'écriture a pu l'être pour moi.

RÉSUMÉ

La mesure d'activité cérébrale en imagerie par résonance magnétique fonctionnelle (IRMf) dépend des changements hémodynamiques associés à l'activité neuronale. La modélisation de ce couplage neurovasculaire est donc essentielle afin d'analyser l'activité cérébrale correctement avec cette méthode. L'objectif de la présente étude était d'examiner l'activité neuronale dans le cortex somesthésique primaire du rat et d'établir si elle est couplée à des changements hémodynamiques similaires dans différentes conditions, incluant des stimulations électriques nociceptives et non nociceptives ainsi que l'application de deux stimuli compétitifs (contre-stimulation). Pour ce faire, des stimulations électriques d'intensité variable ont été appliquées sur la patte postérieure gauche et les potentiels de champ ainsi que les changements de débit sanguin cortical évoqués par ces stimulations ont été enregistrées dans le cortex somesthésique primaire droit. Ensuite, la modulation des potentiels de champ et des changements de débit sanguin cortical a été examinée lors de l'application concomitante de stimulation électrique de la patte postérieure gauche (10mA) et de contre-stimulation thermique nociceptive (52°C) ou non nociceptive (24°C) de la queue. Les résultats montrent une altération du couplage neurovasculaire proportionnelle à l'intensité de stimulation. Plus spécifiquement, cette altération est le résultat d'une modulation différente de l'activité neuronale et des changements hémodynamiques cérébraux par l'augmentation de l'intensité des stimulations et est fortement liée à l'augmentation de la pression artérielle systémique. Toutefois, le couplage neurovasculaire n'était pas altéré par la contre-stimulation, nociceptive ou non. En effet, l'activité neuronale et les changements hémodynamiques cérébraux ont été inhibés de façon proportionnelle lors de contre-stimulation nociceptive. Ces résultats ont des implications pour l'étude des processus liés à la douleur avec les technologies se basant sur le couplage neurovasculaire, comme l'IRMf. D'autres études doivent toutefois être menées afin de confirmer le mécanisme responsable de l'altération du couplage intensité-dépendant. Il serait également important de confirmer le phénomène chez l'humain.

Mots-clés : Douleur, DNIC, pression artérielle, débit sanguin cortical, potentiel de champ

TABLE DES MATIÈRES

REMERCIEMENTS	ii
AVANT-PROPOS	iii
RÉSUMÉ.....	iv
LISTE DES FIGURES	viii
LISTE DES ABRÉVIATIONS, SIGLES ET ACRONYMES	ix
 CHAPITRE I	
INTRODUCTION.....	1
1.1 Base physiologique de l'imagerie par résonance magnétique fonctionnelle.....	2
1.1.1 Principes fondamentaux.....	2
1.1.2 Signal BOLD	2
1.1.3 Origine neurophysiologique du signal BOLD	3
1.1.4 Métabolisme cérébral et changements hémodynamiques.....	4
1.1.4.1 Mécanismes cellulaires.....	6
1.1.4.2 Autorégulation cérébrale et pression artérielle systémique	7
1.2 Couplage neurovasculaire.....	9
1.2.1 Généralités	9
1.2.2 Couplage neurovasculaire et somesthésie.....	11
1.3 Couplage et nociception	13
1.3.1 Physiologie de la douleur et de la nociception	13
1.3.2 Modulation endogène de la nociception et de la douleur	15
1.3.3 Couplage neurovasculaire et stimulations nociceptives	17
1.4 Objectifs et hypothèses	18
 CHAPITRE II	
NEUROVASCULAR COUPLING DURING NOCICEPTIVE PROCESSING IN THE PRIMARY SOMATOSENSORY CORTEX OF THE RAT	20
Résumé.....	21
Abstract	23
Introduction.....	24
Materials and Methods.....	25

Animals and surgical procedures.....	25
Local field potential recordings.....	26
Cortical blood flow recordings.....	27
Somatosensory stimuli.....	27
Experimental protocol.....	28
Data analysis and statistics.....	28
Results.....	29
Neurovascular changes in SI during hindpaw stimulation.....	29
MAP changes induced by hindpaw stimulation.....	30
Pattern and temporal characteristics of CBF and MAP changes.....	31
Neurovascular changes in SI during counter-stimulation.....	31
Discussion.....	33
Alteration of neurovascular coupling during nociceptive processing.....	33
Effect of counter-stimulation on neurovascular coupling.....	35
Limitations and future directions.....	35
Conclusion.....	37
Acknowledgements.....	37
Figure legends.....	41
Reference list.....	46
CHAPITRE III	
DISCUSSION.....	50
3.1 Altération du couplage neurovasculaire lors de stimulations nociceptives.....	50
3.1.1 Effet de la pression artérielle sur l'activité neuronale.....	51
3.1.2 Inhibition neuronale et changements hémodynamiques.....	54
3.1.3 Effet de l'activation sympathique sur les changements hémodynamiques.....	54
3.1.4 Caractéristiques spatiales de l'activité neuronale dans SI et influence sur le couplage neurovasculaire.....	56
3.2 Effet de la contre-stimulation sur le couplage neurovasculaire dans SI.....	56
3.2.1 Inhibition sélective des neurones à large gamme dynamique.....	58
3.2.2 « Vascular steal effect » et contre-stimulation.....	59

3.3	Retombées et directions futures.....	60
3.4	Conclusion.....	61
	RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	62

LISTE DES FIGURES

Figure		Page
1.1	Maintien du débit sanguin cérébral constant pour des valeurs de pression artérielle moyenne physiologiques	8
1.2	Mécanismes impliqués dans la modulation descendante de l'activité nociceptive par les CIDN chez le rat (Le Bars and Willer, 2008)	17
3.1	Mécanismes impliqués dans l'altération du couplage neurovasculaire lors de stimulations nociceptives	53

LISTE DES ABRÉVIATIONS, SIGLES ET ACRONYMES

ACC	Cortex cingulaire antérieur
a.u.	Unité arbitraire
BOLD	« Blood oxygene level dependant »
CBF	Débit sanguin cortical
CIDN/DNIC	Contrôle inhibiteur diffus nociceptif
CVLM	Moelle allongée ventrolatérale caudale
DLF	Faisceau dorsolatéral
FRCQ	Fondation de recherche chiropratique du Québec
IASP	Association internationale pour l'étude sur la douleur
IRMf	Imagerie par résonance magnétique fonctionnelle
i.p.	Injection par voie intra-péritonéale
i.v.	Injection par voie intra-veineuse
LFP	Potentiel de champ
mA	Milliampère
MAP	Pression artérielle moyenne
ms	Milliseconde
NBM	Noyau basal de Meynert
NO	Oxyde nitrique
PAG	Substance grise péri-aqueducule
PB	Noyau parabrachial
PFC	Cortex préfrontal
RVLM	Moelle allongée ventrolatérale rostrale
SEM	Erreur moyenne standard
SEP	Potentiel évoqué somesthésique
SHR	« Spontaneously hypertensive rat »
SRD	Sous-noyau réticulaire dorsal
SI	Cortex somesthésique primaire
SII	Cortex somesthésique secondaire
WDR	Neurone à large gamme dynamique

CHAPITRE I

INTRODUCTION

Depuis plus de deux décennies, l'imagerie par résonance magnétique fonctionnelle (IRMf) a été couramment utilisée afin d'étudier les processus reliés à l'expérience de la douleur dans le cerveau (Tracey et al., 2000; Duerden & Albanese, 2011; Apkarian, Bushnell, Treede & Zubieta, 2005; Peyron, Laurent, & Garcia-Larrea, 2000). Ces études ont, entre autres, démontré l'existence d'un réseau neuronal activé lors de douleur aiguë. Toutefois, ces résultats s'appuient sur une mesure indirecte de l'activité neuronale. En effet, l'inférence d'activité cérébrale depuis le signal mesuré en IRMf est possible grâce au lien existant entre l'activité neuronale, d'une part, et les changements vasculaires locaux associés, d'autre part (Logothetis & Pfeuffer, 2004; Vanzetta & Grinvald, 2008; Ogawa, Lee, Kay & Tank, 1990). Cette relation, nommée couplage neurovasculaire, constitue un vaste champ d'étude nous permettant de saisir les subtilités des mécanismes impliqués lors de l'activité cérébrale, et nous permet de mieux interpréter les résultats obtenus lors d'étude en IRMf. Lors de stimulations nociceptives, il est d'autant plus important de connaître la relation entre l'activité neuronale et la réponse vasculaire associée puisque des changements vasculaires non associés à l'activité neuronale, comme l'augmentation de la pression artérielle par exemple, peuvent être induits par la douleur (Sato, Sato & Schmidt, 1997; Noguchi et al., 1999). Dans cette section, l'origine physiologique du signal mesuré en IRMf sera expliquée. Ensuite, la relation entre la réponse neuronale et les changements hémodynamiques associés sera discutée, puis l'état des connaissances sur le couplage neurovasculaire dans le contexte particulier de la douleur sera détaillé. Finalement, les hypothèses a priori concernant les mécanismes impliqués dans le couplage neurovasculaire lors de stimulations nociceptives et lors de la contre-stimulation (application de deux stimuli compétitifs) seront exposées.

1.1 Base physiologique de l'imagerie par résonance magnétique fonctionnelle

1.1.1 Principes fondamentaux

De façon générale, l'imagerie par résonance magnétique (IRM) exploite la différence de magnétisme des molécules constituant les tissus corporels, dans un champ magnétique extérieur. Ces molécules sont constituées de protons, d'électrons et de neutrons. Chaque proton possède un *spin*, c'est-à-dire un mouvement rotatoire telle une toupie. Dans les molécules présentant un nombre impair de protons (ex : ^1H , ^{13}C), la présence du *spin* des protons permet l'émergence d'un moment magnétique dipolaire. Chaque dipôle magnétique est orienté de façon aléatoire à un moment donné. Lorsqu'exposés à un champ magnétique extérieur, les dipôles magnétiques s'alignent dans la direction du champ, créant un magnétisme macroscopique quantifiable. En plus de donner de précieuses informations sur la densité des tissus, l'IRM peut être utilisée pour mesurer l'activité de différentes régions cérébrales en se basant sur la relation entre l'activité neuronale, le métabolisme cellulaire et les changements vasculaires associés (Malonek & Grinvald, 1996; Logothetis, Pauls, Augath, Trinath & Oeltermann, 2001; Logothetis, 2002; Logothetis, 2002; Viswanathan & Freeman, 2007; Ogawa et al., 1990). On appelle imagerie par résonance magnétique fonctionnelle (IRMf) cette technique permettant d'étudier le fonctionnement du cerveau.

1.1.2 Signal BOLD

En IRMf, différentes techniques peuvent nous renseigner sur les composantes de la réponse vasculaire induite par l'activité neuronale. La mesure acquise le plus fréquemment se nomme le signal BOLD, de l'anglais « blood oxygen level dependant ». Comme son nom l'indique, il reflète les changements d'oxygénation de la circulation vasculaire locale (Raichle & Mintun, 2006; Malonek & Grinvald, 1996). Plus précisément, le signal BOLD s'appuie sur les propriétés paramagnétiques d'une molécule contrainte au compartiment vasculaire, la déoxyhémoglobine (Ogawa et al., 1990). Contrairement à l'oxyhémoglobine, la déoxyhémoglobine possède des électrons libres non liés au dioxygène sur sa molécule de fer, lui conférant ainsi un moment

magnétique et, par conséquent, la propriété de perturber un champ magnétique extérieur (Huettel, Song & McCarthy, 2004). Ogawa et al. (1990) ont été les premiers à montrer comment ces propriétés paramagnétiques permettent d'utiliser la déoxyhémoglobine comme agent de contraste endogène en IRMf. Une augmentation de concentration de cette molécule, au moment de l'augmentation de la consommation d'oxygène par les cellules, perturbe le champ magnétique et diminue l'intensité du signal BOLD, alors qu'une diminution de déoxyhémoglobine lors de l'arrivée du sang riche en oxygène amène une augmentation de l'intensité du signal BOLD (Huettel et al., 2004).

1.1.3 Origine neurophysiologique du signal BOLD

L'intérêt de mesurer ces changements vasculaires en IRMf est d'inférer l'activité neuronale induite par une stimulation dans un paradigme expérimental donné. Bien que de nombreuses études aient été réalisées sur le sujet, il est important de souligner que la relation directe entre l'activité neuronale et le signal BOLD est encore inconnue. Dû aux difficultés techniques liées à l'enregistrement électrophysiologique dans un champ magnétique puissant, il a fallu attendre jusqu'en 2001 pour voir la première étude d'enregistrement simultané d'activité neuronale et du signal BOLD (Logothetis et al., 2001). Depuis, plusieurs études se sont ajoutées afin de décrire le plus justement possible l'activité neuronale responsable des changements vasculaires et de leur impact sur le signal BOLD (Huttunen, Gröhn & Penttonen, 2008; Colonnese, Phillips, Constantine-Paton, Kaila & Jasanoff, 2008; Harris, Jones, Zheng & Berwick, 2010; Viswanathan & Freeman, 2007; Zheng et al., 2002; Boorman et al., 2010; Goense & Logothetis, 2008; Kida & Yamamoto, 2010; Lippert, Steudel, Ohl, Logothetis, & Kayser, 2010; Magri, Logothetis & Panzeri, 2011). Dans l'étude de Logothetis (2001), le signal BOLD a été comparé à l'activité multiunitaire et au potentiel de champ du cortex visuel du macaque lors de stimulation visuelle afin de déterminer quelle composante de la réponse neuronale est principalement responsable du signal BOLD. D'une part, l'activité multiunitaire reflète les potentiels d'action d'une population de neurones enregistrée par une électrode située dans le compartiment extracellulaire (Gold, Henze, Koch & Buzsáki, 2006; Mitzdorf, 1987). D'autre part, le potentiel de champ représente

la somme des potentiels postsynaptiques excitateurs et inhibiteurs d'un groupe de neurones situé à une distance d'environ 250 μm de l'électrode (Katzner et al., 2009). Bien que le nombre de potentiels d'action d'un neurone soit étroitement lié aux potentiels postsynaptiques sur ses dendrites, les deux signaux électrophysiologiques peuvent différer et même se dissocier (Kida & Yamamoto, 2010; Ekstrom, 2010; Huettel et al., 2004). L'étude de Logothetis, qui a été corroborée par plusieurs études, a montré que le signal BOLD est mieux corrélé aux potentiels de champ, et donc à l'activité synaptique, plutôt qu'au taux de décharge des neurones (Logothetis et al., 2001; Logothetis, 2002; Viswanathan & Freeman, 2007; Goense & Logothetis, 2008). En d'autres mots, le signal BOLD reflète mieux l'activité des afférences neuronales à un endroit donné que l'activité efférente.

1.1.4 Métabolisme cérébral et changements hémodynamiques

Comme expliqué précédemment, le signal BOLD reflète les changements locaux de concentration en déoxyhémoglobine. Puisque celui-ci est tributaire du métabolisme et de la réponse vasculaire associée, il est impératif de comprendre le rapport existant entre le métabolisme cérébral et les changements vasculaires, dit hémodynamiques. Angelo Mosso (1881) a été le premier à démontrer la relation entre la demande énergétique et le débit sanguin cérébral. Il a remarqué, chez un patient ayant une malformation crânienne au niveau du lobe frontal, une augmentation des pulsations due à l'augmentation du débit sanguin lorsque le patient réalisait des tâches arithmétiques sollicitant son lobe frontal. Cette démonstration illustre à la fois que (1) l'activité neuronale est associée à une hausse du métabolisme cérébral, et que (2) l'élévation du métabolisme est accompagnée d'une augmentation du débit sanguin cérébral. Roy et Sherrington (1890), lors d'études chez les animaux, ont conclu que certains produits du métabolisme cérébral stimulaient l'activité vasomotrice, apportant des changements hémodynamiques en réponse aux variations de l'activité cérébrale. Par la suite, Sokoloff et al. (1977) ont démontré que la variation locale du métabolisme du glucose est couplée à une augmentation du débit sanguin dans la même région cérébrale permettant ainsi de répondre aux besoins en oxygène et métabolites des neurones. Par contre, comme le

démontrèrent par la suite les travaux de Malonek et Grinvald, les changements hémodynamiques associés à une hausse du métabolisme sont d'une amplitude démesurée. Ceci implique que plus de sang oxygéné est amené à la région activée qu'il n'en faut pour répondre à la demande métabolique, et cela sur une région plus étendue que l'activité neuronale. Les auteurs ont comparé ce phénomène à : « [...] arroser un jardin entier pour les besoins d'une seule fleur » (Malonek & Grinvald, 1996). Suite à la stimulation et à l'activation des neurones, l'augmentation du métabolisme de l'oxygène précède l'augmentation du débit sanguin cérébral, menant à une augmentation de la concentration de déoxyhémoglobine locale. Cela induit donc une diminution initiale ($< 3s$) du signal BOLD suivant l'activation neuronale nommée « initial dip » ou diminution post-stimulus précoce (Rother et al., 2002). Suivant l'élévation du débit, les compartiments artériolaire et veineux se dilatent, menant à une augmentation nette du volume sanguin cérébral local et de la concentration d'oxyhémoglobine (Mandeville et al., 1998; Drew, Shih & Kleinfeld, 2011; Zong, Kim & Kim, 2012). Toutefois, l'augmentation d'oxyhémoglobine ne s'ajustent que grossièrement à l'activité neuronale, comme le démontre les différences spatiotemporelles observées entre la réponse neuronale et les changements de concentration d'oxyhémoglobine locale lors d'une stimulation (Malonek & Grinvald, 1996). Cette seconde phase se traduit par une augmentation prolongée du signal BOLD (Malonek et al., 1997). Enfin, puisque le volume revient moins rapidement au niveau de base que le débit sanguin, on observe tardivement une augmentation de la concentration de déoxyhémoglobine, et donc, une diminution du signal BOLD sans activité neuronale impliquée (Buxton, Uludag, Dubowitz & Liu, 2004). Cette diminution de signal est nommée en anglais «poststimulus undershoot» ou diminution post-stimulus tardive. La diminution précoce est plus circonscrite que l'augmentation du signal BOLD, cette seconde phase pouvant s'étendre jusqu'à une distance de 3 à 5 mm du foyer d'activité neuronale (Malonek & Grinvald, 1996). Certains auteurs ont d'ailleurs avancé que la diminution précoce pourrait mieux représenter l'activité neuronale sous-jacente (Frostig, Lieke, Ts'o & Grinvald, 1990; Ances, 2004; Thompson, Peterson & Freeman, 2003; Malonek & Grinvald, 1996; Kim, Duong & Kim, 2000), mais cette théorie est fortement contestée dans la littérature (Buxton, 2001; Ances, Buerk, Greenberg & Detre, 2002; Vanzetta &

Grinvald, 2001; Mayhew et al., 2001; Lindauer et al., 2001; Jones, Berwick, Johnston & Mayhew, 2001; Buerk, Ances, Greenberg & Detre, 2003). Un modèle récent de Friston et al. (2000) lie les changements BOLD à l'activité neuronale et hémodynamique en 5 phases en couplant: (1) l'activité neuronale aux changements de débit sanguin; (2) les changements de débit sanguin à l'oxygénation des tissus; (3) les changements de débit sanguin au volume sanguin; (4) les changements de débit, de volume et d'extraction de l'oxygène aux changements de concentration de déoxyhémoglobine, et finalement (5) les changements de volume et de concentration de déoxyhémoglobine à la réponse BOLD (Zheng et al., 2002; Friston, Mechelli, Turner & Price, 2000).

1.1.4.1 Mécanismes cellulaires

Comme expliqué précédemment, une stimulation activant une région du cerveau amène une augmentation du métabolisme cérébral de l'oxygène significativement moins élevée que l'amplitude de la réponse hémodynamique ou que le métabolisme du glucose (Fox, Raichle, Mintun & Dence, 1988; Madsen, Cruz, Sokoloff & Dienel, 1999; Malonek & Grinvald, 1996; Raichle, 1998; Vanzetta & Grinvald, 2008). Bien que les mécanismes exacts impliqués dans cette divergence ne soient pas bien connus, certains éléments nous permettent de comprendre comment les changements hémodynamiques s'ajustent au métabolisme cellulaire cérébral. Premièrement, la diffusion de l'oxygène dans le tissu cérébral est lente alors qu'un ajustement rapide des substrats énergétiques est requis (Buxton & Frank, 1997; Raichle & Mintun, 2006). Lors d'augmentation rapide d'activité neuronale, la glycolyse anaérobie, donc sans consommation d'oxygène, permet une production d'énergie plus rapide. Bien que la contribution de la glycolyse soit minime comparativement au métabolisme oxydatif, il semble qu'elle soit stratégiquement essentielle (Zonta et al., 2003). En effet, lors de l'activation rapide des neurones, une quantité importante de glutamate, le neurotransmetteur excitateur principal du système nerveux central, s'accumule dans la fente synaptique. Puisque celui-ci mène à une excitotoxicité neuronale, le glutamate doit être capté rapidement par les astrocytes, une cellule de soutien du système nerveux central. Celle-ci permet la transformation du glutamate en glutamine et le transfert de nouveau au neurone

pré-synaptique pour être retransformé en neurotransmetteur actif. Ce processus actif mène à l'accumulation de lactate, le produit de la combustion anaérobie du pyruvate. Les vaisseaux sanguins, sensibles à l'altération du ratio lactate-pyruvate dans le milieu extracellulaire, se dilatent lors d'une augmentation du ratio et se contractent lors d'une diminution (Huettel et al., 2004; Raichle & Mintun, 2006). Parallèlement, l'activation des récepteurs glutamatergiques de l'astrocyte produit une augmentation de calcium intracellulaire menant à la synthèse d'acide arachidonique, laquelle est métabolisée en prostaglandines E2, une molécule vasodilatatrice (Rudzinski, Swiat, Tomaszewski & Krejza, 2007; Zonta et al., 2003). L'accumulation du lactate et la relâche d'acide arachidonique causées par la participation de l'astrocyte engendrent un changement de tonus des vaisseaux sanguins menant à la réponse hémodynamique locale lors d'une activation des neurones.

1.1.4.2 Autorégulation cérébrale et pression artérielle systémique

Le cerveau a des besoins élevés en glucose et oxygène. En effet, bien qu'il ne représente que 2 % de la masse corporelle, il consomme environ 20 % de l'énergie produite au repos (Attwell et al., 2010). Il est donc primordial de conserver un apport constant en sang oxygéné. L'autorégulation cérébrale désigne l'ensemble des mécanismes spécifiques au tissu cérébral qui interviennent afin d'éviter que l'apport sanguin ne soit modulé à la hausse ou à la baisse par la pression artérielle ou par une diminution importante de volume sanguin. Cette intervention permet d'éviter la syncope dans le cas d'un apport sanguin insuffisant ou la rupture d'un vaisseau lors d'un apport sanguin excessif dû à l'augmentation de la pression de perfusion, elle-même régie par la pression artérielle et la pression intracrânienne. La pression de perfusion cérébrale est régulée en partie par l'habileté intrinsèque de l'endothélium des vaisseaux sanguins de libérer des facteurs induisant une contraction ou relaxation des muscles lisses de la paroi vasculaire (Rudzinski et al., 2007). De plus, le diamètre des vaisseaux sanguins est régulé par l'activité des terminaisons nerveuses périvasculaires (régulation neurogène) (Iadecola & Nedergaard, 2007; Petersen, 2011; Hamel, 2006; Cauli, 2010). À l'extérieur du parenchyme cérébral, les afférences sympathiques provenant du ganglion cervical

supérieur régissent le débit sanguin cérébral (Lee, 2002). L'effet principal est de produire un décalage de la courbe d'autorégulation vers la droite lors d'augmentation de la pression artérielle moyenne (MAP) induite par l'activation du système nerveux sympathique (Figure 1.1). À l'intérieur du parenchyme, la régulation neurogène est exercée par les voies vasoactives sous-corticales provenant du noyau basal de Meynert (NBM), du locus coeruleus et des noyaux du raphé, ainsi que par les interneurons. Ces afférences produisent leur effet en libérant principalement de l'acétylcholine (ACh), de la noradrénaline (NA) et de la sérotonine (5-HT) sur leur récepteur respectif situé sur les cellules endothéliales et les interneurons. Ceux-ci produisent finalement la relâche d'oxyde nitrique (NO) menant à une vasodilatation locale (Toda, Ayajiki & Okamura, 2009).

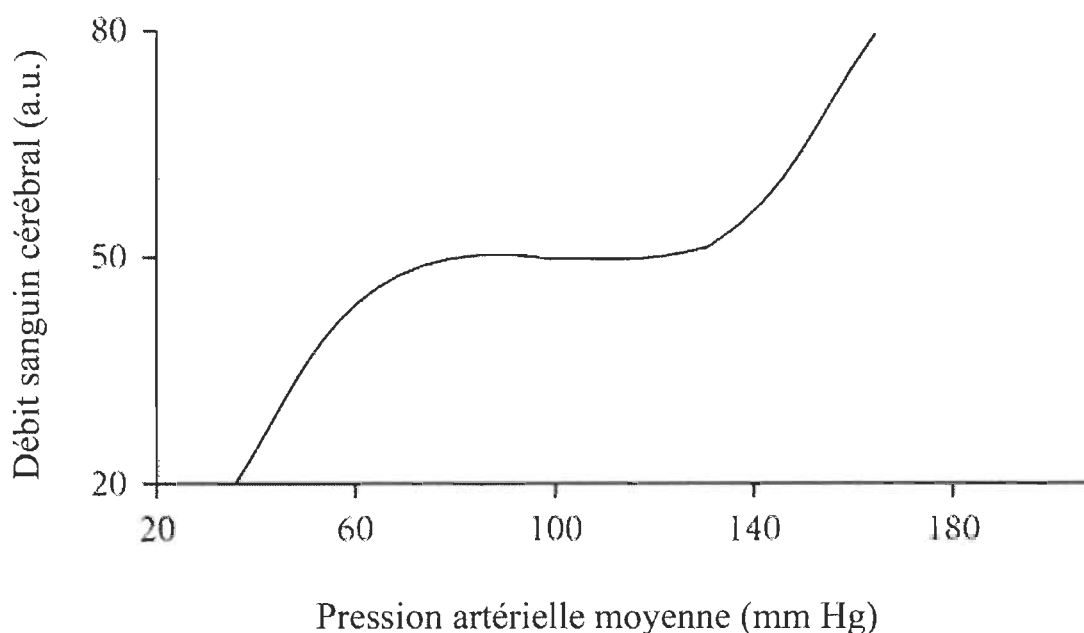


Figure 1.1 Maintien du débit sanguin cérébral constant pour des valeurs de pression artérielle moyenne physiologiques.

Ces mécanismes d'autorégulation permettent au débit sanguin cérébral de demeurer stable malgré des variations de pression artérielle situées généralement entre 60 et 160 mm Hg (Hamel, 2006; Hernandez, Brennan & Bowman, 1978; Kontos et al., 1978; Rosengarten, Huwendiek & Kaps, 2001). Outre ces limites, le débit sanguin cérébral devient dépendant de la pression de perfusion et est alors fortement associé aux

changements de pression artérielle (Jones et al., 2002). Cependant, plusieurs études tendent à démontrer beaucoup de variabilité locale sur les valeurs de pression inférieure et supérieure auxquelles le débit sanguin cérébral est assujéti à la pression artérielle (Jones et al., 2002; Kimme, Ledin & Sjoberg, 2002). Selon Kimme et al. (2002). L'autorégulation classique n'est retrouvée que lorsque les données d'une région étendue sont regroupées, alors qu'à l'échelle locale telle qu'enregistrée par une sonde laser Doppler, l'absence d'autorégulation est possible. De plus, une étude de Qiao (2006) et une autre de Wang (2006) ont démontré qu'une hypertension transitoire induite simultanément à l'activation neuronale perturbe la réponse BOLD (Qiao et al., 2006; Wang et al., 2006). Malgré les mécanismes d'autorégulation connus, il semble que l'hypertension doit être considérée comme une influence du débit sanguin cérébral, et donc, du signal BOLD. Puisque la douleur peut être associée à des changements hémodynamiques non reliés à l'activité neuronale telle une augmentation de la pression artérielle transitoire (Sato et al., 1997; Noguchi et al., 1999), il est possible que la relation entre l'activité neuronale, les changements hémodynamiques et le signal BOLD soit altérée par des stimulations d'intensité provoquant de la douleur. Avant d'évaluer la modulation induite par la douleur, voyons d'abord la dynamique du couplage neurovasculaire dans un contexte plus large.

1.2 Couplage neurovasculaire

1.2.1 Généralités

La relation entre l'activité neuronale et les changements hémodynamiques associés, nommée couplage neurovasculaire, est un sujet d'étude en plein développement. L'objectif de recherche est de caractériser la modulation de la réponse neuronale et des changements hémodynamiques lors d'une expérience donnée, et de les comparer entre eux afin de comprendre leur relation. Ultimement, le but est de constituer un modèle théorique qui nous permettra d'inférer, le plus justement possible, l'activité neuronale sous-jacente au signal BOLD. Le plus souvent, l'activité synaptique ou l'activité multiunitaire y sont comparées soit au signal BOLD (Logothetis et al., 2001;

Viswanathan & Freeman, 2007; Lippert et al., 2010; Boorman et al., 2010; Colonnese et al., 2008; Goense & Logothetis, 2008; Huttunen et al., 2008; Kida & Yamamoto, 2010; Magri et al., 2011), soit à une composante de la réponse hémodynamique telles que le débit sanguin cérébral (Jones, Hewson-Stoate, Martindale, Redgrave & Mayhew, 2004; Hewson-Stoate, Jones, Martindale, Berwick & Mayhew, 2005; Kim, Masamoto, Fukuda, Vazquez & Kim, 2010; Norup & Lauritzen, 2001; Sheth et al., 2004; Ureshi, Kershaw & Kanno, 2005; Zheng et al., 2010), le volume sanguin et le métabolisme de l'oxygène (Berwick et al., 2005; Berwick et al., 2008; Devor et al., 2003; Devor et al., 2005; Franceschini et al., 2008; Harris et al., 2010; Jones, Berwick, Hewson-Stoate, Gias & Mayhew, 2005; Jones et al., 2008; Nemoto et al., 2004; Nemoto et al., 2012; Sheth et al., 2003; Sheth et al., 2004). Dans une revue de la littérature, Ekstrom et al. (2010) ont observé que l'activité synaptique varie de façon parallèle aux changements hémodynamiques dans plusieurs cas. Par exemple, lors de stimulation du cortex visuel chez le singe, le couplage est conservé de façon linéaire, peu importe la durée de la stimulation (Logothetis, 2001). De plus, en modulant la fréquence de présentation d'un stimulus visuel, Koch et al. (2006) ont observé une conservation du couplage jusqu'à 7-8 Hz. Cependant, en augmentant davantage la fréquence de stimulation, la réponse hémodynamique s'est dissociée de l'activité neuronale sous-jacente (Koch, Steinbrink, Villringer, & Obrig, 2006). Un autre cas de découplage a été observé dans le cortex visuel primaire de singe macaque. Lors d'une suppression perceptuelle, c'est-à-dire lorsqu'une cible visuelle devient momentanément imperceptible dû à l'ajout abrupte d'une «texture» visuelle avoisinante, le signal BOLD a été significativement diminué alors que les potentiels de champs et l'activité multiunitaire n'ont pas été modulés (Maier et al., 2008). En plus du cortex visuel, des dissociations ont été observées dans le cervelet (Caesar, Thomsen, & Lauritzen, 2003) et l'hippocampe (Ackermann, Finch, Babb & Engel, 1984; Angenstein, Kammerer & Scheich, 2009). Des dissociations ont également été rapportées dans d'autres régions corticales. Dans une revue de Ekstrom et al. (2010), plusieurs avenues sont présentées afin d'expliquer les dissociations. Premièrement, puisque la réponse hémodynamique à une stimulation est spatialement plus étendue que la réponse neuronale, un découplage peut être mesuré lorsque l'enregistrement se situe à l'extérieur du site d'activité neuronale mais à l'intérieur des

limites de la zone de changements vasculaires. D'autre part, il est également possible que les potentiels postsynaptiques ne se somment pas en potentiel de champ dû à l'arrangement géométrique des neurones (Mitzdorf, 1987). Cette hypothèse n'explique toutefois pas pourquoi les études mesurant un découplage entre les potentiels de champ et les changements hémodynamiques rapportent également une dissociation entre l'activité multiunitaire et vasculaire (Ekstrom, 2010).

1.2.2 Couplage neurovasculaire et somesthésie

Pour des raisons pratiques et méthodologiques, le système visuel a été le premier examiné dans l'étude du couplage neurovasculaire. Toutefois, les conséquences de la dissociation de l'activité neuronale et des changements hémodynamiques pour l'analyse du signal BOLD ont mené à l'étude du couplage neurovasculaire lors des différentes fonctions cérébrales, telle que la somesthésie. De plus, les résultats d'études récentes indiquent que la relation entre l'activité neuronale et les changements hémodynamiques diffère d'une région cérébrale à l'autre (Devonshire et al., 2012; Shih, Wey, De La Garza & Duong, 2011), démontrant ainsi l'importance d'évaluer le couplage neurovasculaire dans chacune des régions cérébrales. En somesthésie, le cortex somesthésique primaire (SI) du rat représente un site intéressant dû à son organisation somatotopique précise (Lamour, Guilbaud & Willer, 1983), facilitant ainsi la reproductibilité d'enregistrement électrophysiologique d'une région corporelle spécifique. Chez le rat, plusieurs études dans SI ont montré que la modulation de la fréquence de stimulation dans une gamme moyenne, soit entre 3 et 5 Hz, amenait des réponses neuronales et hémodynamiques proportionnelles lors de stimulation des vibrisses (Sheth et al., 2003; Hewson-Stoate et al., 2005; Martindale et al., 2005), du nerf sciatique (Ngai, Jolley, D'Ambrosio, Meno & Winn, 1999) et de la patte antérieure ou postérieure (Sheth et al., 2004; Huttunen et al., 2008; Sheth et al., 2003). Toutefois, comme dans l'étude de Koch dans le système visuel, une stimulation somesthésique présentée à des fréquences inférieures ou supérieures à cette gamme de fréquences moyenne engendre une dissociation de l'activité neuronale et des changements hémodynamiques (Ances, Greenberg & Detre, 2000; Hewson-Stoate et al., 2005; Ngai et

al., 1999; Norup & Lauritzen, 2001; Devor et al., 2003; Sheth et al., 2004). Il existe donc des contextes où le couplage neurovasculaire est linéaire, soit lors de modulation de la fréquence de stimulation dans des valeurs moyennes, et d'autres où le couplage est non linéaire, soit lors de modulation de la fréquence de stimulation à des valeurs extrêmes.

Le même phénomène se produit lors de la modulation de la durée de la stimulation. Alors que pour les stimulations de moins de 2 secondes, les changements d'activité neuronale et hémodynamiques sont proportionnels (Ances, Zarahn, Greenberg & Detre, 2000; Martindale et al., 2003), cette relation semble devenir non-linéaire pour des stimulations de plus de 2 secondes (Ances et al., 2000; Martindale et al., 2005; Ances et al., 2000). Il en va de même pour la modulation de l'intensité de la stimulation. En effet, lors de stimulation de la patte antérieure d'intensité comprise entre 0.5 et 2 mA, Kida et al. (2010) ont observé une relation linéaire entre le signal BOLD et les potentiels de champ (Kida & Yamamoto, 2010). Toutefois, les résultats d'une étude plus ancienne comparant les potentiels de champ au débit sanguin cérébral lors de modulation de l'intensité de la stimulation du nerf infra-orbital entre 0.1 et 2 mA suggéraient une relation non linéaire (Norup & Lauritzen, 2001). Dans cette étude, lorsque les potentiels de champ étaient d'amplitude inférieure à 2.0-2.5 mV, aucun changement hémodynamique n'était mesuré. Au-delà de ce seuil cependant, les potentiels de champ et le débit sanguin cérébral évoluaient de façon proportionnelle. Plusieurs autres études ont corroboré l'existence d'un tel seuil d'activité neuronale afin d'induire une réponse vasculaire mesurable (Devor et al., 2003; Jones et al., 2004; Nemoto et al., 2004). En modulant l'intensité de stimulations naturelles, plus précisément en augmentant la vitesse de déflexion des vibrisses, Devor et al. (2003) ont observé qu'une altération du couplage se produisait également lors de stimulation d'intensité élevée. Selon ces auteurs, la plus haute intensité de stimulation était suffisante pour saturer les récepteurs sensitifs, et donc l'activité neuronale évoquée par la stimulation, alors que la réponse hémodynamique augmentait toujours. S'il en est ainsi pour les stimulations naturelles, on ignore si les stimulations électriques peuvent induire une saturation de la réponse hémodynamique.

En somme, le modèle linéaire entraîne une sous-estimation de l'activité neuronale à partir des changements hémodynamiques à des intensités basses de stimulations, alors qu'il amène une surestimation à des intensités élevées. La modélisation du couplage neurovasculaire a permis de montrer que bien que la relation entre l'activité neuronale et les changements hémodynamiques soit linéaire dans une gamme restreinte d'intensité, il semble qu'une relation non linéaire décrit de façon plus exhaustive le couplage neurovasculaire lors de modulation de l'intensité à des valeurs extrêmes (Nemoto et al., 2004; Norup & Lauritzen, 2001; Sheth et al., 2004; Devor et al., 2003; Jones et al., 2004). Il est probable qu'une telle altération du couplage neurovasculaire soit également présente lors de stimulations nociceptives, mais cela n'a toujours pas été investigué.

1.3 Couplage et nociception

1.3.1 Physiologique de la douleur et de la nociception

Selon l'association internationale pour l'étude sur la douleur (IASP), la douleur est une expérience sensorielle et émotionnelle désagréable associée à un dommage tissulaire potentiel ou réel, ou décrit dans des termes évoquant une telle lésion (Loeser & Treede, 2008). Cette expérience comporte une composante sensoridiscriminative (qualité de la sensation, intensité, localisation et durée), motivoaffective (aspect désagréable) et cognitive (expérience antérieure) faisant intervenir des processus physiologiques et comportementaux. La nociception, quant à elle, représente le processus d'encodage et de traitement d'événement potentiellement ou réellement dommageable pour les tissus (Loeser & Treede, 2008).

Utilisée depuis deux décennies dans la recherche sur la douleur, l'IRMf est maintenant un outil indispensable à l'étude des régions et des réseaux cérébraux impliqués dans les processus liés à la douleur. Les structures impliquées le plus souvent décrites sont le thalamus, le cortex somesthésique primaire (SI) et secondaire (SII), l'insula, le cortex cingulaire antérieur et le cortex préfrontal (Tracey & Mantyh, 2007; Apkarian et al., 2005; Duerden & Albanese, 2011). Malgré l'utilisation croissante de l'IRMf, le couplage neurovasculaire lors de stimulations nociceptives n'a toujours

pas été investigué. Nous croyons que les intensités de stimulations employées dans ces études sont susceptibles d'entraîner des changements hémodynamiques non reliés à l'activité neuronale, telle qu'une augmentation de pression artérielle (Erdos et al., 2003; Sato, 1997; Noguchi et al., 1999), ce qui en fait un sujet d'intérêt.

Lamour et al. (1983) ont été les premiers à montrer l'implication de SI dans la nociception chez le rat. À l'aide d'enregistrement électrophysiologique, ils ont décrit 4 catégories de neurones présents dans cette région corticale : (1) les neurones excités par une stimulation cutanée non nociceptive, (2) les neurones non nociceptifs répondant à une stimulation profonde, (3) ceux excités par une stimulation spécifiquement nociceptive et finalement, (4) les neurones à large gamme dynamique (WDR), répondant à des stimulations nociceptives ou non nociceptives (Lamour, Willer & Guilbaud, 1983). Contrastant avec les neurones non nociceptifs, ceux répondant aux stimulations nociceptives possèdent un large champ récepteur. Les neurones à large gamme dynamique, quant à eux, possèdent un champ récepteur plus restreint que ceux des neurones spécifiquement nociceptifs. Malgré cette différence dans la taille de leur champ récepteur à la périphérie, les neurones nociceptifs et non nociceptifs de SI possèdent certaines similarités. Par exemple, on retrouve pour les deux populations de neurones une organisation en colonne (Lamour et al., 1983; Jaw, Kao, Chen & Liao, 2009). Puisque les neurones d'une même colonne sont activés par la stimulation d'un même champ récepteur, cela suggère qu'une organisation somatotopique semblable à celle des neurones non nociceptifs devrait être retrouvée en nociception. En comparant la topographie corticale activée dans SI lors de la stimulation de fibre A β et lors de la stimulation des fibres A δ , Jaw et al. (2009) ont confirmé l'organisation somatotopique dans SI lors de stimulations nociceptives, et que celle-ci correspondait spatialement à l'organisation somatotopique lors de stimulation non nociceptive. Par contre, l'organisation est beaucoup moins précise et la région corticale activée est plus étendue lors de la stimulation des fibres A δ et C par rapport à la stimulation des fibres A β (Shaw, Chen, Tsao & Yen, 1999; Kalliomäki, Weng, Nilsson & Schouenborg, 1993). L'activation de neurones d'une plus grande région corticale lors de stimulations nociceptives comparativement aux stimulations non nociceptives pourrait donc altérer le couplage neurovasculaire.

1.3.2 Modulation endogène de la nociception et de la douleur

Les neurones à large gamme dynamique réagissent de façon particulière lors d'une stimulation concomitante (contre-stimulation) sur un autre endroit du corps (hétérotopique). En effet, leur activité peut être modulée par une stimulation extérieure à leur champ récepteur. Lors de la stimulation concomitante d'un champ récepteur de neurone à large gamme dynamique et d'un site hors du champ récepteur du neurone enregistré, Lamour et al. (1983) ont montré une inhibition pour seulement 3 neurones sur 35, alors qu'un mélange complexe d'inhibition et d'excitation a été observé chez 10 neurones sur 35 dans SI. Il semble que cette modulation soit observée spécifiquement lors de l'application de deux stimulations nociceptives, d'où le nom contrôles inhibiteurs diffus nociceptifs (CIDN) (Le Bars, Dickenson & Besson, 1979; Lamour et al., 1983). Le Bars et al. (1979) ont observé l'effet inhibiteur de la contre-stimulation par l'inhibition de 60-100 % de l'activité induite par la stimulation des fibres C au niveau des neurones à large gamme dynamique de la corne dorsale du rat, lors de stimulations nociceptives concomitantes. Cette modulation de l'activité nociceptive au niveau de la moelle épinière est le résultat de l'activation d'un circuit spino-bulbo-spinal impliquant le sous-noyau réticulaire dorsal (SRD) (Villanueva, Bouhassira & Le Bars, 1996). Ses projections cheminent principalement dans le faisceau dorsolatéral (DLF) et font synapse dans la corne dorsale sur les neurones de 2^e ordre (ascendants). L'activation des neurones du SRD induit une hyperpolarisation de la membrane des neurones de 2^e ordre dans la corne dorsale, causant une diminution de leur excitabilité et une augmentation du seuil d'activation par les fibres afférentes Aδ et C (Le Bars, 2002). La figure 1.1 illustre les voies impliquées dans la modulation de l'activité nociceptive dans la corne dorsale par les CIDN chez le rat. Chez l'humain, l'activation soutenue de structures supra-spinales, dont SI et la substance grise périacqueducule (PAG) lors de contre-stimulation est associée à l'inhibition de l'activité nociceptive spinale mesurée par le réflexe RIII (Piché, Arsenault & Rainville, 2009). L'hypoalgésie est quant à elle associée à une diminution de l'activation de SI, du cortex cingulaire antérieur (ACC), du cortex préfrontal (PFC) et de l'amygdale, tel qu'observé en IRMf (Piché et al., 2009). Cette diminution du signal BOLD lors de contre-stimulation est probablement due à l'inhibition de l'activité neuronale. Toutefois, il est possible qu'un autre mécanisme soit

impliqué et qu'il cause une diminution du signal BOLD non reliée à l'activité neuronale. En effet, lors d'activation neuronale intense, l'augmentation de volume sanguin cérébral à la région activée est accompagnée par une diminution de volume dans les régions corticales adjacentes (Luo, Pengcheng, Shangbin, Shaoqun & Qingming, 2006; Devor et al., 2005). Ce phénomène, mieux connu sous le terme anglais « vascular steal effect », a été observé lors de l'activation de foyers épileptiques (Schwartz & Bonhoeffer, 2001) ainsi que lors de la mesure des changements hémodynamiques induits par une stimulation nociceptive dans SI (Luo et al., 2006; Devor et al., 2005). L'étendue de l'inhibition n'est pas encore connue lors de processus nociceptifs. Toutefois, lors de l'activation de foyer épileptique dans SI chez le rat, l'inhibition maximale a été enregistrée à 2 mm du centre du foyer (Zhao et al., 2011). Dans le paradigme expérimental de contre-stimulation, les stimulations concomitantes activeront les zones corticales associées de façon simultanée. Due à l'organisation somatotopique que l'on retrouve dans SI, il est possible que l'augmentation de volume sanguin cérébral induit par la deuxième stimulation amène une diminution de volume sanguin cérébral évoquée par la première stimulation. Cependant, puisqu'aucune étude n'a évalué le couplage neurovasculaire lors de contre-stimulation, il est impossible de confirmer dans quelle mesure l'inhibition de la réponse hémodynamique est attribuable à l'inhibition neuronale.

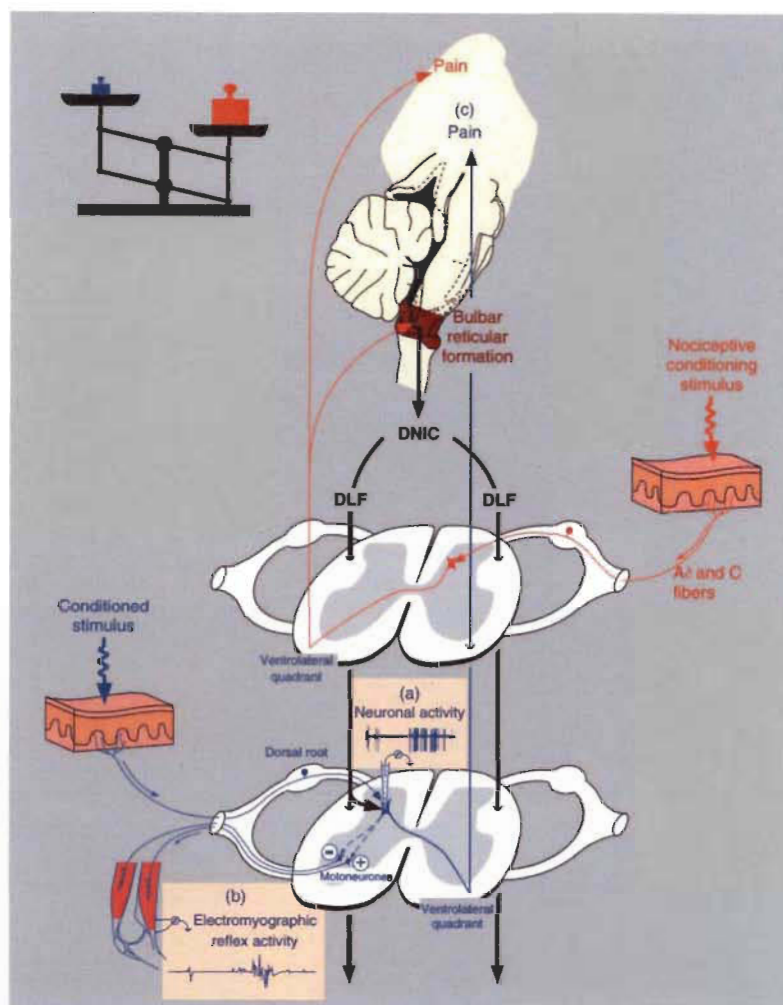


Figure 1.2 Mécanismes impliqués dans la modulation descendante de l'activité nociceptive par les CIDN chez le rat (Le Bars and Willer, 2008).

1.3.3 Couplage neurovasculaire et stimulations nociceptives

De nombreuses études en IRMf et en imagerie optique sur les changements hémodynamiques induits par des stimulations nociceptives dans les différentes régions cérébrales observent l'implication de l'insula, le cortex somesthésique primaire et secondaire, le cortex cingulaire antérieur, le cortex préfrontal et le thalamus dans l'expérience de la douleur et sa modulation (Luo, Li, Chen, Zeng & Luo, 2007; Apkarian, Bushnell, Treede & Zubieta, 2005; Zhao et al., 2012). En examinant l'activité dans SI lors de stimulations non nociceptives et nociceptives, une augmentation du signal a été observée en augmentant l'intensité de la stimulation (Luo et al., 2007). Par

contre, au-delà d'un certain seuil, l'augmentation de l'intensité de la stimulation ne modifie plus l'amplitude de la réponse hémodynamique, suggérant une saturation de celle-ci (Norup & Lauritzen, 2001; Sheth et al., 2004; Ureshi et al., 2005). À ces intensités de stimulation, les changements hémodynamiques induits par l'activité neuronale semblent affectés par les changements de la pression artérielle systémique (Erdos et al., 2003; Tuor, McKenzie & Tomanek, 2002). Même si la pression artérielle a peu d'influence sur les mécanismes locaux d'ajustement du débit sanguin cérébral à un niveau modéré, il a été observé qu'une augmentation de pression d'environ 30 mm Hg produit une élévation de débit sanguin cortical de 18 %, soit environ la moitié de la réponse induite par une stimulation nociceptive (Erdos et al., 2003). Selon cette dernière étude, les changements hémodynamiques observés lors de stimulations nociceptives de haute intensité reflètent l'action simultanée des mécanismes autorégulateurs provoquant une vasoconstriction des vaisseaux cérébraux et des mécanismes locaux liés à l'activité neuronale amenant une vasodilatation locale. Puisque des changements de pression artérielle ont un effet sur l'amplitude de la réponse hémodynamique, il est important d'en faire l'enregistrement lors d'étude sur le couplage neurovasculaire lors de processus nociceptifs.

1.4 Objectifs et hypothèses

Considérant que la douleur est susceptible de provoquer des changements de pression artérielle, et que ceux-ci peuvent influencer le débit sanguin cérébral, l'étude du couplage neurovasculaire lors de stimulations nociceptives permettra d'évaluer dans quelle mesure les changements hémodynamiques sont associés à l'activité neuronale. L'objectif premier de cette étude est donc d'évaluer le couplage neurovasculaire lors de stimulations nociceptives et non nociceptives, en enregistrant l'activité neuronale et le débit sanguin cortical de façon concomitante dans SI chez le rat. La relation entre les deux mesures sera ensuite comparée aux changements de pression artérielle moyenne lors de ces mêmes stimulations. En appui avec la littérature, nous émettons l'hypothèse que bien que la pression artérielle ait un effet mineur sur la réponse hémodynamique, celle-ci devrait se dissocier de l'activité neuronale à haute intensité. En deuxième lieu,

nous évaluerons le couplage neurovasculaire lors d'une contre-stimulation. Dans la littérature, il n'est pas clair si le couplage neurovasculaire est maintenu ou non en contexte d'inhibition neuronale (Lauritzen, Mathiesen, Schaefer & Thomsen, 2012; Stefanovic, Warnking & Pike, 2004; Buzsaki, Kaila & Raichle, 2007). La modulation de l'activité nociceptive par la contre-stimulation nous permet d'étudier le couplage neurovasculaire lors de l'inhibition de l'activité neuronale dans SI. Puisque les potentiels de champ représentent la somme des potentiels postsynaptiques excitateurs et inhibiteurs dans une région donnée et que la réponse hémodynamique reflète davantage ces potentiels de champ que l'activité de décharge des neurones, nous croyons que l'activité neuronale et la réponse hémodynamique seront inhibées de façon proportionnelle dans SI lors de la contre-stimulation. Il n'est toutefois pas impossible que la contribution du « stealing effect » aux changements hémodynamiques amène une diminution de signal plus importante pour la réponse vasculaire par rapport à l'activité neuronale, altérant ainsi le couplage neurovasculaire.

CHAPITRE II

NEUROVASCULAR COUPLING DURING NOCICEPTIVE PROCESSING IN THE PRIMARY SOMATOSENSORY CORTEX OF THE RAT

Le contenu de ce chapitre est présenté sous forme de manuscrit qui a été soumis à la revue Pain le 30 janvier 2013 par Renaud Jeffrey-Gauthier, Jean-Paul Guillemot, et Mathieu Piché.

Résumé

Les méthodes de neuroimagerie moderne, telle que l'imagerie par résonance magnétique fonctionnelle (IRMf) sont couramment utilisées afin d'étudier les mécanismes cérébraux impliqués dans la nociception et l'expérience de la douleur. Toutefois, l'activité cérébrale mesurée avec ces techniques est influencée par les changements hémodynamiques associés à l'activité neuronale et dépend donc de l'efficacité des mécanismes du couplage neurovasculaire. Puisque la douleur peut être associée à des changements hémodynamiques non reliés à l'activité neuronale locale (p. ex. lors d'augmentation de la pression artérielle moyenne [MAP]), il est primordial de déterminer si le couplage neurovasculaire est maintenu ou s'il est altéré lors du traitement de l'information nociceptive. Les potentiels de champ (LFP) et les changements de débit sanguin cortical (CBF) ont été mesurés dans le cortex somesthésique primaire (SI) de 15 rats, ainsi que la MAP, lors de stimulation électrique de la patte postérieure gauche. Premièrement, les changements des LFP, du CBF et de la MAP pour des stimulations d'intensité croissante (3, 5, 7.5, 10, 15, 20 et 30 mA) ont été examinés. Ensuite, la modulation des LFP, du CBF et de la MAP induits par une stimulation électrique de la patte postérieure gauche (10 mA) par une contre-stimulation thermique nociceptive (52 °C) ou non nociceptive (24 °C) de la queue a été évaluée. Les résultats observés montrent une altération du couplage neurovasculaire lors de stimulations nociceptives ($p < 0.001$). Cette altération est proportionnelle à l'intensité et fortement associée aux changements de MAP ($r = 0,98$, $p < 0,001$). Cependant, la contre-stimulation, nociceptive ou non, n'a pas affecté le couplage neurovasculaire ($p = 0,4$), puisqu'une modulation similaire des LFP et du CBF a été observé. D'autres études devront être menées afin de préciser les mécanismes impliqués dans l'altération du couplage neurovasculaire et vérifier si ce phénomène se produit chez l'humain. Ces résultats doivent cependant être pris en considération pour l'interprétation du signal en IRMf dans les études impliquant des stimulations nociceptives associées à des changements de MAP.

Neurovascular coupling during nociceptive processing in the primary somatosensory cortex of the rat

Renaud Jeffrey-Gauthier¹⁻², Jean-Paul Guillemot³⁻⁴ and Mathieu Piché^{1,2,4,5*}

¹*Département de chiropratique, ²Groupe de recherche en Neurosciences, Université du Québec à Trois-Rivières, Trois-Rivières, QC, Canada G9A 5H7; ³Département de kinanthropologie, Université du Québec à Montréal, Montréal, QC, Canada H3C 3P8, ⁴Centre de Recherche en Neuropsychologie et Cognition, ⁵Centre de recherche, Institut universitaire de gériatrie de Montréal, Université de Montréal, Montréal, QC, Canada H3T 1J4*

Number of pages: 23

Number of Figures: 4

Number of Tables: 3

*Corresponding author:

Mathieu Piché, DC, PhD
 Département de chiropratique
 Université du Québec à Trois-Rivières
 3351 boul. des Forges, C.P. 500
 Trois-Rivières, Québec, Canada G9A 5H7
 Telephone: 819-376-5011 Extension 3998
 Fax: 819-376-5204
 E-mail: Mathieu.Piché@uqtr.ca

Running title: SI neurovascular coupling during nociceptive processing

Key words: Pain, DNIC, blood pressure, cerebral blood flow, local field potentials.

Abstract

Neuroimaging methods such as functional magnetic resonance imaging (fMRI) have been used extensively to investigate pain-related cerebral mechanisms. However, these methods rely on a tight coupling of neuronal activity to hemodynamic changes. Because pain may be associated with hemodynamic changes unrelated to local neuronal activity (e.g., increased mean arterial pressure (MAP)), it is essential to determine whether the neurovascular coupling is maintained during nociceptive processing. In this study, local field potentials (LFP) and cortical blood flow (CBF) changes evoked by electrical stimulation of the left hind paw were recorded concomitantly in the right primary somatosensory cortex (SI), in 15 rats. LFP, CBF and MAP changes were examined in response to non-nociceptive and nociceptive stimuli ranging between 3 to 30 mA. In addition, LFP, CBF and MAP changes evoked by a 10-mA stimulation were examined during immersion of the tail in non-nociceptive or nociceptive hot water (counter-stimulation). SI neurovascular coupling was altered for stimuli of nociceptive intensities ($p < 0.001$). This alteration was intensity-dependent and was strongly associated with MAP changes ($r = 0.98$, $p < 0.001$). However, when the stimulus intensity was kept constant, SI neurovascular coupling was not significantly affected by nociceptive counter-stimulation ($p = 0.4$), which similarly affected the amplitude of shock-evoked LFP and CBF changes. It remains to be determined whether such neurovascular uncoupling occurs in humans, and whether it also affects other regions usually activated by painful stimuli. These results should be taken into account for accurate interpretation of fMRI studies that involve nociceptive stimuli associated with MAP changes.

Introduction

Functional magnetic resonance imaging (fMRI) has been used extensively to investigate pain-related processes. These studies have provided evidence of a brain network that is commonly activated during acute pain, including the primary somatosensory cortex (SI) [3]. Nevertheless, accurate inferences from the fMRI signal rely on tight coupling of neuronal activity with the associated hemodynamic changes, which underlie the blood oxygen level-dependent (BOLD) signal. Because nociceptive stimulation may be associated with cortical hemodynamic changes unrelated to local neuronal activity [11], it is essential to determine whether neurovascular coupling is maintained during nociceptive processing.

Among pain-related areas, SI is of particular interest. Its roles in nociceptive processing and in the sensori-discriminative aspect of pain have been clearly established in animal and human studies [3, 8, 22, 43, 46]. In addition, SI shows a precise somatotopic organisation and it is activated by both nociceptive and non-nociceptive stimuli [21]. Although several studies indicate that the coupling of neuronal activity to hemodynamic changes in SI is relatively constant in many conditions, numerous reports have shown some discrepancies.

For instance, electrical stimulation at intensities ranging between 0.6 to 1.4 mA and at frequencies ranging between 3 to 5 Hz is associated with proportional neuronal and hemodynamic changes when applied to the whisker pad [15, 27, 40], the infra-orbital nerve [31], the sciatic nerve [30], and the fore and hind paws [16, 40, 41]. However, a number of studies observed nonlinear coupling with intensities and frequencies below or above this range [1, 2, 15, 17, 31]. Altogether, these studies indicate that the neurovascular coupling in SI of the rat during non-nociceptive stimulation is affected by stimulus parameters. It is presumed that further nonlinearities are induced during nociceptive processing, but this has never been investigated. Indeed, although the brain shows remarkable vascular autoregulation in a wide range of mean arterial pressure (MAP) [14, 18-20, 34, 37], sudden blood pressure changes induced by nociceptive stimulation may affect the neurovascular coupling [4].

Another condition that may induce dissociation between neuronal activity and cortical blood flow (CBF) changes in SI is counter-stimulation. Counter-stimulation involves the application of two competing stimuli on different regions of the body. Stimuli can be nociceptive or non-nociceptive but it has been demonstrated that only nociceptive counter-stimulation may produce inhibitory effects [23, 47]. In the anesthetised rat, when two nociceptive stimuli are applied, the strongest stimulus decreases the activity of wide-dynamic-range (WDR) neurons induced by the competing stimulus, through descending pathways [23, 24]. In humans, this mechanism is thought to partly underlie the decrease of SI activity measured with fMRI in similar conditions, although this effect also involves other cerebral processes [33]. However, SI is also activated by nociceptive counter-stimulation, which may affect the CBF response and the neurovascular coupling.

The main objective of the present study was to examine the neurovascular coupling in SI during nociceptive electrical stimulation of the hindpaw and during counter-stimulation. We hypothesised that, in spite of the vascular autoregulation, SI neurovascular coupling would be altered during nociceptive processing associated with MAP changes.

Materials and Methods

Animals and surgical procedures

Experiments were performed on 15 male Wistar rats (body weight: 350–500 g, Laboratoires Charles River, Saint-Constant, Québec, Canada). The animals were kept in our facilities, where a light-dark cycle of 14 h-10 h was maintained. All experimental procedures were approved by the Université du Québec à Trois-Rivières animal care committee, were in accordance with the guidelines of the Canadian Council on Animal Care, and adhered to the guidelines of the Committee for Research and Ethical Issues of the International Association for the Study of Pain (IASP). All animals were in good health and showed robust responses to somatosensory stimuli on different body regions.

Surgical procedures were initiated after animals were deeply anaesthetised with a urethane bolus (1.2 g kg^{-1} i.p.). The right jugular vein was catheterised and additional urethane doses were administered intravenously as needed (10% of initial dose) to maintain an adequate and stable level of anaesthesia throughout the experiment. In addition to stable systemic MAP, the depth of anaesthesia was routinely confirmed by the absence of withdrawal reflexes (paw pinching). MAP was continuously recorded from a cannula inserted into the right axillary artery and connected to a pressure transducer (Harvard Apparatus, Holliston, MA, USA). Animals were artificially ventilated (SAR-830/P Ventilator, CWE inc., Ardmore, PA, USA) using a tracheal cannula, and the end-tidal CO_2 level was continuously monitored (CAPSTAR-100 Carbon dioxide analyser, CWE inc., Ardmore, PA, USA) and kept constant between 3.5% and 4% by controlling respiratory rate and tidal volume. Body temperature was monitored with a rectal probe and was maintained at $37.5 \pm 0.5^\circ\text{C}$ with the help of a temperature control system (TCAT-2LV controller, Physitemp instruments inc, USA). Rats were placed in a stereotaxic frame (Model 900, Kopf Instruments, Tujunga, CA, USA). A craniotomy was performed over SI, which was defined using the Paxinos and Watsons stereotaxic coordinates: antero-posteriorly from bregma and medio-laterally from the midline suture (A-P: 1 to -4 mm; L: 1 to 5 mm)[32]. Warm paraffin oil was then applied on the brain and was added during the experiment as needed. Experimental procedures lasted approximately 16 h. At the end of the experiment, the deeply anaesthetised rat was perfused with saline and paraformaldehyde (4%) through the left cardiac ventricle.

Local field potential recordings

Using a hydraulic micromanipulator (Model 640, David Kopf Instruments, Tujunga, CA, USA), a glass microelectrode filled with 3 M KCl (impedance 1-2 $\text{M}\Omega$) was inserted at a depth of approximately 600 μm below the cortical surface of SI, at the coordinates of the hindpaw representation (A-P: -1.1 mm, L: 2.8 mm)[32]. This depth was chosen in accordance with the approximate location of layer IV because this layer receives thalamo-cortical input and shows somatosensory LFP of greater amplitude [45].

To ensure that the recording site was exclusively responsive to hindpaw stimulation, multiunit activity was recorded (bandpass: 300 - 3 000 Hz; amplification: 10 000X, amplifier: Model P511K, Grass Medical instruments, Quincy, MA, USA) during tactile stimulation and pinching. Multiunit activity was visualised on an oscilloscope and monitored with a loudspeaker. The recording site was selected only if the stimulation of the 4th and 5th digit produced robust and stable multiunit responses while stimulation of the tail produced no response. The LFP signal was amplified (10 000X, amplifier: Model P511K amplifier, Grass Medical instruments, Quincy, MA, USA), filtered: : (band-pass 1 - 300 Hz) and recorded (sampling rate: 5 kHz; Power 1401 acquisition system, Cambridge Electronic Design, Cambridge, UK) for offline analysis.

Cortical blood flow recordings

A laser-Doppler probe (Micro-needle probe TSD145, Biopac systems, Goleta, CA, USA) was placed on the cortical surface of SI, as close as possible to the microelectrode without achieving contact. The probe was carefully positioned to avoid large vessels. CBF was measured with a time constant of 1 s and was processed with a DC remove (30 s) function (Spike2, Cambridge Electronic Design, Cambridge, UK). The signal was recorded (sampling rate: 100 Hz; Power 1401 acquisition system, Cambridge Electronic Design, Cambridge, UK) for offline analyses.

Somatosensory stimuli

Electrical stimulation of the hindpaw (10-s trains of 1-ms pulses at 5 Hz with an inter-train interval of 55 s) was delivered by a constant-current stimulator (Model DS7, Digitimer Ltd, Welwyn Garden city, UK), triggered by a computer-controlled sequencer (Power 1401 acquisition system, Cambridge Electronic Design, Cambridge, UK), using a pair of subdermal needle electrodes inserted on the lateral aspect of the 4th and 5th digits (Model E2, Grass Medical instruments, Quincy, MA, USA). These stimulus parameters were selected because they elicited robust LFP and CBF changes in pilot experiments, consistent with previous reports on neurovascular coupling in SI (Huttunen

et al., 2008; Matsuura and Kanno, 2001; Ngai et al., 1999). It should be noted that electrical stimulation does not allow a selective activation of specific fiber groups. However, MAP increases associated with hind paw electrical stimulation depend on fiber groups III and IV in the rat and most reports on MAP changes induced by somatic afferent stimulation have demonstrated that group I and II afferent fibers are ineffective to produce MAP increases [38]. Therefore, based on MAP changes, stimulus intensities of 3 and 5 mA were characterised as non-nociceptive and stimulus intensities of 7.5 mA and above were characterised as nociceptive for the present experimental conditions.

Experimental protocol

A stabilisation period of two hours was allowed before the beginning of the recording session. LFP and CBF changes evoked by electrical stimulation of the left hindpaw were recorded simultaneously from the right SI in the area corresponding to the hindpaw representation [32].

The same 15 rats were used for the 2 experiments. Experiment 1 was always performed first to confirm that robust responses could be elicited at each stimulus intensity. Experiment 2 was conducted subsequently after a rest of 15 minutes. Experiment 1 consisted of a series of electrical stimuli covering a range of stimulus intensities (3, 5, 7.5, 10, 15, 20, 30 mA), including 5 trials for each intensity. Experiment 2 consisted of a series of 15 electrical stimuli at a constant intensity of 10 mA distributed equally in three conditions: baseline, counter-stimulation and recovery. For counter-stimulation, the tip of the tail (3 cm) was immersed in nociceptive hot water (session 1: 52°C) or non-nociceptive warm water (session 2: 24°C). Each session was separated by 30 minutes of rest, and the session order was counterbalanced.

Data analysis and statistics

LFP, CBF and MAP data were analysed using Spike2 software (Cambridge Electronic Design, Cambridge, UK, version 6.15). For the quantification of the LFP amplitude, the peak-to-peak value of each potential was extracted within a 60-ms window, from 10 ms

following the stimulus onset. The mean LFP response was then computed by averaging the 250 individual LFPs (evoked by the 5 trains of 50 pulses each) for each intensity (experiment 1) or for each condition of the counter-stimulation paradigm (experiment 2). For CBF and MAP changes, the onset-to-peak value was extracted within a 20-s window. The mean responses were then computed using the 5 individual CBF and MAP responses for each intensity (experiment 1) or for each condition of the counter-stimulation paradigm (experiment 2). In some animals, a clearly distinct second peak was observed in CBF (n=14) and MAP (n=6) for some of the stimulus intensities (experiment 1). In these cases, the second peak amplitude was measured between 15 and 25 s post stimulus relative to baseline. For the group analyses, LFP, CBF and MAP values were normalised to z-scores. Neurovascular coupling was indexed by the CBF/LFP ratio. The MAP recordings could not be collected for the entire experiment in 5 animals, so MAP data from these animals were excluded from all analyses.

All results are expressed as means \pm SEM. Statistical analyses were performed with Statistica v10.0 (Statsoft Inc., Tulsa, OK, USA) with a significance threshold of $p \leq 0.05$. The effect of stimulus intensity on changes in mean amplitude of LFP, CBF, MAP and CBF/LFP ratio were assessed using one-way repeated-measures ANOVAs, followed by Dunnett's multiple comparisons test. The effect of nociceptive and non-nociceptive counter-stimulation was compared using two-way repeated-measures ANOVAs followed by Tukey's post-hoc test and planned contrasts to decompose significant effects and to test a priori hypotheses. Sphericity was adjusted by the Greenhouse-Geisser correction when appropriate. Pearson's correlations were used to examine the relationship between the CBF/LFP ratio and MAP changes across stimulus intensities.

Results

Neurovascular changes in SI during hindpaw stimulation

Electrical stimulation of the hindpaw produced robust LFP and CBF changes (see representative example in Figure 1A-B). As expected, stimulus intensity significantly

affected the amplitude of LFP and CBF changes ($F(14, 84)=3.3$, $p<0.01$ and $F(14, 84)=162.6$, $p<0.001$, respectively, see Figure 1A-B and 2A). However, LFP amplitude did not increase linearly with stimulus intensity. Dunnett's post-hoc test revealed that LFP amplitude was significantly increased for the 7.5-, 10- and 15-mA intensities compared with the 3-mA intensity ($p=0.01$, $p=0.004$, $p=0.009$, respectively), but not for the 5-, 20- and 30-mA intensity compared with the 3-mA intensity ($p=0.08$, $p=0.09$, $p=0.76$, respectively). Regarding CBF changes, the amplitude progressively increased with increasing stimulus intensity. Dunnett's post-hoc test revealed that the amplitude of shock-evoked CBF changes was greater for intensities of 5, 7.5, 10, 15, 20 and 30 mA compared with the 3-mA intensity ($p=0.002$ for 5 mA and $p<0.001$ for 7.5 to 30 mA). These results indicate that local neuronal activity and vascular changes in SI are affected differently within this range of stimulus intensities. Accordingly, there was a two-fold increase in the CBF/LFP ratio from the 3-mA to the 30-mA intensity ($F(14, 84)=18.8$, $p<0.001$; see Figure 2B). Dunnett's post-hoc test revealed that the CBF/LFP ratios were not significantly different for the 5-mA intensity compared with the 3-mA intensity ($p=0.8$). However, it was progressively increased from the 7.5-mA intensity and was significantly altered for the 15-, 20- and 30-mA intensities compared with the 3-mA intensity ($p<0.001$). This is consistent with the progressive decrease of LFP responses at higher intensities, while CBF changes progressively increased with MAP changes. Accordingly, MAP changes were strongly associated with CBF changes ($y = 0.96x$; $r=0.93$, $p=0.003$) and the CBF/LFP ratio ($y = 0.60x + 1.5$; $r=0.98$, $p<0.001$).

MAP changes induced by hindpaw stimulation

MAP was increased by electrical stimulation of the hindpaw for some of the stimulus intensities (see representative example in Figure 1C) but always remained below 130 mmHg. As expected, stimulus intensity affected the amplitude of these changes ($F(9,81)=54.7$, $p<0.001$; see Table 1A, Figure 1C and 2A). Dunnett's post-hoc test revealed that MAP changes were significantly increased for the 15-, 20- and 30-mA intensities compared with the 3-mA intensity ($p<0.001$; see in Figure 2A), but not for the 5-, 7.5- and 10-mA intensities compared with the 3-mA intensity ($p>0.1$).

Pattern and temporal characteristics of CBF and MAP changes

The initial CBF and MAP responses were similar and occurred within 15 s after stimulus onset. The peak latency of responses for CBF (3-30 mA intensities) and MAP (7.5-30 mA intensities) was similar, although it was not affected by intensity in the case of CBF ($F(6, 84)=1.0$, $p=0.4$) while it decreased progressively at higher intensities for MAP ($F(4, 36)=6.1$, $p<0.001$) (see Table 2). For both measures, the initial peak was followed by a second peak after the stimulus offset. This response was observed for higher intensities only (≥ 10 mA for CBF and ≥ 15 mA for MAP) and was not observed systematically in every rat. The second peak occurred in 14 rats for CBF and in 6 rats for MAP (see Figure 3). In these rats, for the 15, 20 and 30 mA intensities, the latency of the second peak was delayed for the MAP compared to CBF but this difference did not reach statistical significance for all intensities together (main effect: $F(1, 23)=1.4$, $p=0.2$) or across intensities (interaction: $F(2, 46)=0.2$, $p=0.8$); see Table 2).

The amplitude of the second peak was affected by stimulus intensity for both measures (CBF: $F(3, 39)=19.7$, $p<0.001$; MAP: $F(2, 10)=8.2$, $p=0.007$; see Figure 3 and Table 3). Dunnett's post-hoc test revealed that for the CBF, the second peak amplitude was significantly increased for the 15-, 20- and 30-mA intensity compared with the 10-mA intensity ($p<0.001$). For the MAP, the second peak amplitude was significantly increased for the 30-mA intensity compared with the 15-mA intensity ($p=0.005$) but not for the 20-mA intensity compared with the 15-mA intensity ($p=0.7$). Besides, the second peak amplitude relative to the first peak amplitude ranged between 45.9% and 49.1% for the CBF but only between 18.4% and 23.1% for the MAP.

Neurovascular changes in SI during counter-stimulation

In the second experiment, electrical stimuli were delivered at a constant intensity of 10 mA to examine whether the neurovascular coupling may be altered by counter-stimulation. As expected, the amplitude of shock-evoked LFP was modulated by counter-stimulation in a significantly different way across sessions (interaction: $F(14, 28)=5.4$, $p=0.01$; see Figure 4A-B). Planned contrasts revealed that the LFP amplitude

was decreased (by 7.0%) during nociceptive counter-stimulation when compared with baseline ($p=0.02$), while it was slightly increased (by 3.4%) during non-nociceptive counter-stimulation compared with baseline ($p=0.04$). Changes induced by nociceptive counter-stimulation were also significantly different compared with the corresponding changes during non-nociceptive counter-stimulation ($p=0.005$). In both sessions, LFP returned to baseline values after counter-stimulation ($p=0.85$ and $p=0.89$, respectively).

Shock-evoked CBF changes were also modulated by counter-stimulation in a significantly different way across sessions (interaction: $F(14, 28)=3.8$, $p=0.03$; see Figure 4A-B). Planned contrasts revealed that CBF changes were decreased during nociceptive counter-stimulation compared with baseline ($p=0.05$), while they were not significantly different compared with baseline during non-nociceptive counter-stimulation ($p=0.99$). In contrast to LFP changes, however, shock-evoked CBF changes did not return to baseline values after nociceptive counter-stimulation ($p=0.02$), and they decreased after non-nociceptive counter-stimulation ($p=0.05$). In spite of these changes, the mean CBF/LFP ratio was not significantly affected by counter-stimulation across sessions ($F(14, 28)=0.9$, $p=0.4$; see Figure 4C-D). This indicates that counter-stimulation did not significantly alter SI neurovascular coupling.

Shock-evoked MAP changes were significantly modulated across conditions ($F(9, 18)=7.1$, $p=0.005$) but were not different between sessions ($F(9, 9)=1.4$, $p=0.3$) (see Table 1B). In addition, MAP changes were not modulated differently by conditions across sessions (interaction: $F(9, 18)=1.6$, $p=0.2$). For the main effect of conditions, Tukey's post-hoc test revealed that MAP changes were not significantly affected during counter-stimulation but they were decreased during the recovery period relative to baseline ($p=0.003$).

Discussion

Alteration of neurovascular coupling during nociceptive processing

Electrical stimulation of the hindpaw produced robust LFP and CBF changes. At stimulation intensities of 3 and 5 mA, the coupling between these changes was comparable. However, at higher stimulation intensities (≥ 7.5 mA), the CBF/LFP ratio increased and was markedly altered from 10 mA. Intensity-dependent nonlinear neurovascular coupling in SI has been reported previously [2, 15, 17, 31, 44]. In these studies, however, only low-intensity stimulation was used and blood pressure was unchanged during the stimulation. Therefore, the nonlinearities observed in these studies and in the present study most likely rely on different mechanisms.

In the present study, the CBF/LFP ratio was affected by at least two factors. Firstly, CBF changes were strongly associated with MAP changes, which increased proportionally with the intensity of the stimulation. Thus, it is most likely that part of stimulus-induced CBF changes were unrelated to neuronal activity, therefore altering the CBF/LFP ratio. Accordingly, a transient increase in MAP induced by intra-arterial blood transfusion can produce a significant increase in sensory cortex CBF (18%), although no somatosensory stimulus is delivered [11]. In addition, β -adrenergic receptor activation by the sympathetic release of norepinephrine has been suggested to contribute to pain-related CBF increases [11]. In a recent study, responses to low intensity electrical stimulation of the forepaw in the rat were examined under dexmedetomidine anesthesia (DEX - an α -2 adrenergic receptor agonist) [12]. In that study, a non-linear relationship was observed between stimulus frequency (4-12 Hz) and CBF and LFP amplitude. In addition, in spite of a stable MAP, CBF changes and LFP amplitude did not change proportionally in relation to stimulus frequency, but were rather characterized by a power law function. Interestingly, that study also shows that DEX enhances the hemodynamic response compared to other anaesthetics, presumably through increased vascular tone, by the activation of α -2 adrenergic receptors and cortical astrocytes [12]. Similarly, sympathetic activation induced by the high-intensity stimulation in the present study

may have enhanced the CBF response by activating the locus coeruleus, which produces similar effects [6].

In the present experiment, it is not possible to dissociate CBF changes induced by neuronal activity from those induced by sympathetic activation and MAP increases. Nevertheless, considering the strong correlation between MAP changes and CBF changes, it is most likely that both neuronal activity and MAP changes directly or indirectly contributed to CBF changes when the stimulus intensity was increased, thus producing an alteration of the neurovascular coupling in SI. It should be noted, however, that CBF changes may not be entirely driven by MAP changes. Indeed, the CBF changes showed a second peak and this response was not always paralleled by similar MAP changes. Although the latency of the second peak for CBF and MAP was not significantly different, the second peak of the MAP response tended to be delayed compared with the CBF response. In addition, the amplitude of the second peak relative to the first peak was twice greater for the CBF compared to the MAP.

This late response to nociceptive stimulation has been observed in human studies using cutaneous thermal stimuli as well as stimulation of deep tissues[5, 9, 26, 29] and it is thought to be related to perceptual intensity of nociceptive stimuli[29]. In anesthetised rats, it may contribute to the neural encoding of stimulus intensity that allows perception and intensity discrimination in a conscious state.

A second mechanism to consider in the alteration of the CBF/LFP ratio is the decrease of LFP amplitude at higher stimulus intensities. In contrast to the present results, this modulation is expected to be associated with a proportional decrease of CBF changes. Indeed, fMRI and optical imaging studies indicate that neuronal inhibition is associated with arteriolar vasoconstriction [7, 10]. In the present study, however, the robust shock-evoked MAP elevation may have masked subtle CBF decreases associated with neuronal inhibition. In addition, the decrease in LFP amplitude may have been caused by the transient elevation in the blood pressure itself. Indeed, a 20% elevation in blood pressure can inhibit spinal nociceptive activity through activation of the caudal ventrolateral

medulla [13, 25, 28, 35, 36, 42, 48]. Because the amplitude of this change (20%) is similar to the amplitude of MAP changes in the present study, nociceptive stimuli that induced increases in blood pressure may have activated pain regulatory systems, which in turn inhibited spinal nociceptive activity. Consequently, SI activity may have been decreased due to weaker nociceptive transmission from the spinal cord to the brain, in spite of the increase in CBF, therefore leading to neurovascular uncoupling.

Effect of counter-stimulation on neurovascular coupling

In the present study, counter-stimulation was used to examine the neurovascular coupling in SI while its activity was modulated by a competing stimulus. As expected, only nociceptive counter-stimulation produced a decrease of LFP and CBF changes induced by hindpaw stimulation. In contrast to the intensity-dependant alteration of the neurovascular coupling, however, changes in LFP and CBF were very similar, and the neurovascular coupling was not significantly affected by counter-stimulation. In the rat, nociceptive counter-stimulation does not affect spinal nociceptive-specific neurons [24], while it exerts inhibitory effects on the activity of spinal WDR neurons [23]. In that study, WDR neurons activated by transcutaneous electrical stimulation of the hindpaw were strongly inhibited (60-100%) by nociceptive pinching or immersion of the tail in nociceptive hot water. In the present study however, the modulation of LFP amplitude by counter-stimulation was relatively small (7%). Nevertheless, this result is not surprising because nociceptive-specific neurons could still convey nociceptive information to SI, which may not be as strongly influenced by counter-stimulation as the spinal cord. It remains to be determined whether nonlinearities may be observed in the neurovascular coupling with stronger modulation of SI nociceptive activity by other types of counter-stimulation or by other interventions.

Limitations and future directions

One aspect of the current results that should be taken into account is that although the stimulus was strong enough to activate nociceptive fibres, we did not observe any

evoked-potential with a latency corresponding to C-fibre conduction velocity. Indeed, sural nerve C-fibre activation produces a late potential in SI of the rat, with a mean latency of 136 ms post-stimulus [39]. Future studies should examine SI neurovascular coupling using peripheral nerve stimulation and recording to confirm the activation of C-fibres and to clarify their potential role in the neurovascular uncoupling in SI and other pain-related regions. In addition to allow the determination of the activation threshold for each fiber group, peripheral nerve recordings would allow examining the saturation of large diameter fibers' activation, which may contribute to the decrease in LFP amplitude at high intensities and to neurovascular uncoupling. Another limitation is that stimulus intensities were not randomised in this study. Future experiments should be designed accordingly to limit potential sequence order effects.

The present results have important implications for the study of pain-related processes with neuroimaging methods, such as fMRI. For instance, this study shows that SI neurovascular coupling may be altered during nociceptive processing, and this alteration most likely relies on blood pressure elevation. Using standard analysis methods for fMRI data, this finding implies that pain-related responses associated with increased MAP are likely to be overestimated because CBF changes induced by neuronal activity and by MAP changes are confounded. It remains to be determined whether such neurovascular uncoupling occurs in humans, and whether it involves other regions usually activated by painful stimuli. If this is the case, the accurate inference of neuronal activity induced by nociceptive stimuli would require that stimulus-induced changes in blood pressure be monitored and controlled for in data analyses. It should be mentioned, however, that the BOLD signal is sensitive to blood flow changes but also to other parameters not measured in this study, including the cerebral blood volume (pial vessel diameter) and oxygen consumption. Therefore, the properties of the neurovascular coupling observed in this study should be examined in fMRI to confirm that similar effects are observed for the coupling of BOLD signal to neuronal activity.

Another implication of the current results for fMRI methods is that, although SI neurovascular coupling was altered with increasing nociceptive intensities, it was

relatively stable when the stimulus intensity was constant and when SI activity was modulated by nociceptive counter-stimulation. This result indicates that similar paradigms may be less susceptible to the effects of neurovascular uncoupling across conditions, although pain-evoked changes may be over-estimated. This is consistent with a human fMRI investigation that showed a decrease of SI activity during nociceptive counter-stimulation [33].

Conclusion

The present results show that SI neurovascular coupling is altered during nociceptive processing and that MAP changes are likely to contribute to this alteration. However, when stimulus intensity was kept constant, SI neurovascular coupling was not significantly affected by nociceptive counter-stimulation, which similarly affected the amplitude of LFP and CBF changes. This warrants future studies in humans to examine the neurovascular coupling during pain and pain modulation and to develop strategies to control for the potential MAP-induced alteration of hemodynamic changes associated with nociceptive processes.

Acknowledgements

This study was supported by grants from the Natural Sciences and Engineering Research Council of Canada to MP and J-PG, the research Chair in Pain Neurophysiology from «Université du Québec à Trois-Rivières» (UQTR) to MP and by the «Fondation de recherche en chiropratique du Québec» (FRCQ) to MP. Renaud Jeffrey-Gauthier was supported by scholarships from the UQTR and FRCQ.

Conflict of interest: The authors report no conflict of interest.

Table 1. Absolute and relative changes in mean arterial pressure (mean \pm SEM) induced by electrical stimulation of the left hindpaw

A. ELECTRICAL STIMULATION AT DIFFERENT INTENSITIES							
Intensity (mA)	3	5	7.5	10	15	20	30
Absolute (Mm Hg)	2.12 \pm 0.26	2.37 \pm 0.35	3.41 \pm 0.07	4.88 \pm 1.15	8.88 \pm 1.88	11.06 \pm 2.35	15.39 \pm 2.86
Relative (%)	2.8 \pm 0.27	3.12 \pm 0.25	4.47 \pm 0.32	6.36 \pm 0.44	11.41 \pm 0.54	14.06 \pm 0.28	19.38 \pm 0.27
B. ELECTRICAL STIMULATION (10 mA) COMBINED WITH COUNTER-STIMULATION							
Non nociceptive (24°C)				Nociceptive (52°C)			
	Baseline	Counter stimulation	Recovery	Baseline	Counter stimulation	Recovery	
Absolute (Mm Hg)	4.34 \pm 1.11	3.23 \pm 0.78	2.93 \pm 0.64	3.03 \pm 0.53	3.01 \pm 0.49	2.43 \pm 0.42	
Relative (%)	5.65 \pm 0.37	4.25 \pm 0.19	3.91 \pm 0.11	3.98 \pm 0.18	3.94 \pm 0.45	3.24 \pm 0.13	

Table 2. Latency (s) of CBF and MAP responses

Intensity (mA)	3	5	7.5	10	15	20	30
CBF - 1st Peak	8.9±0.7	8.4±0.6	9.0±0.4	9.1±0.4	9.0±0.4	8.6±0.5	7.8±0.6
MAP - 1st Peak	-	-	11.3±0.7	10.8±0.7	9.6±0.6	9.0±0.4	8.9±0.5
CBF - 2nd Peak	-	-	-	16.7±0.5	17.8±1.1	17.1±0.5	17.3±0.3
MAP - 2nd Peak	-	-	-	-	19.3±0.5	22.8±2.7	22.0±3.0

Table 3. Amplitude of the second peak for CBF and MAP responses

Intensity (mA)	3	5	7.5	10	15	20	30
CBF (z-score)	-	-	-	-1.20±0.04	0.18±0.16	0.33±0.10	0.69±0.18
Relative amplitude (% of 1st peak)	-	-	-	45.9±3.1	48.8±3.4	49.1±2.9	48.7±3.3
MAP (mm Hg)	-	-	-	-	3.1±0.8	3.1±0.8	4.7±0.9
Relative amplitude (% of 1st peak)	-	-	-	-	23.1±2.9	18.4±2.3	20.8±2.5

Figure legends

Figure 1: Representative example of A) local field potentials, B) cerebral blood flow, and C) mean arterial pressure responses to electrical stimulation of the hindpaw at different stimulus intensities in one rat. In A, the vertical cursor indicates the onset of a stimulation pulse. In B and C, the vertical cursor indicates the onset of a 10-s train. On the right, the amplitude of responses is plotted for each intensity. Note that mean arterial pressure changes were baseline-corrected for illustration purposes only, to allow a better comparison between intensities.

Figure 2: A) Mean local field potentials (n=15), mean cortical blood flow changes (n=15) and mean arterial blood pressure changes (n=10) induced by electrical stimulation of the hindpaw at different stimulus intensities. B) Neurovascular coupling: CBF/LFP ratio during electrical stimulation of the hindpaw at different stimulus intensities (n=15). A significant increase was observed at 15, 20 and 30 mA compared with 3 mA. Error bars=SEM. *p<0.05, **p<0.01, #p<0.001.

Figure 3: A) Mean cortical blood flow changes (n=14) and B) mean arterial blood pressure changes (n=6) induced by electrical stimulation of the hindpaw at different stimulus intensities. Only data from rats showing the second peak were included in the mean responses. The second peak was observed at intensities ≥ 10 for CBF and ≥ 15 for MAP.

Figure 4: Top: Local field potential and cerebral blood flow changes induced by electrical stimulation of the hind paw during A) nociceptive and B) non-nociceptive counter-stimulation. Bottom: The CBF/LFP ratio was not significantly altered during C) nociceptive and D) non nociceptive counter-stimulation. Error bars=SEM. *p<0.05 (n=15).

Figure 1

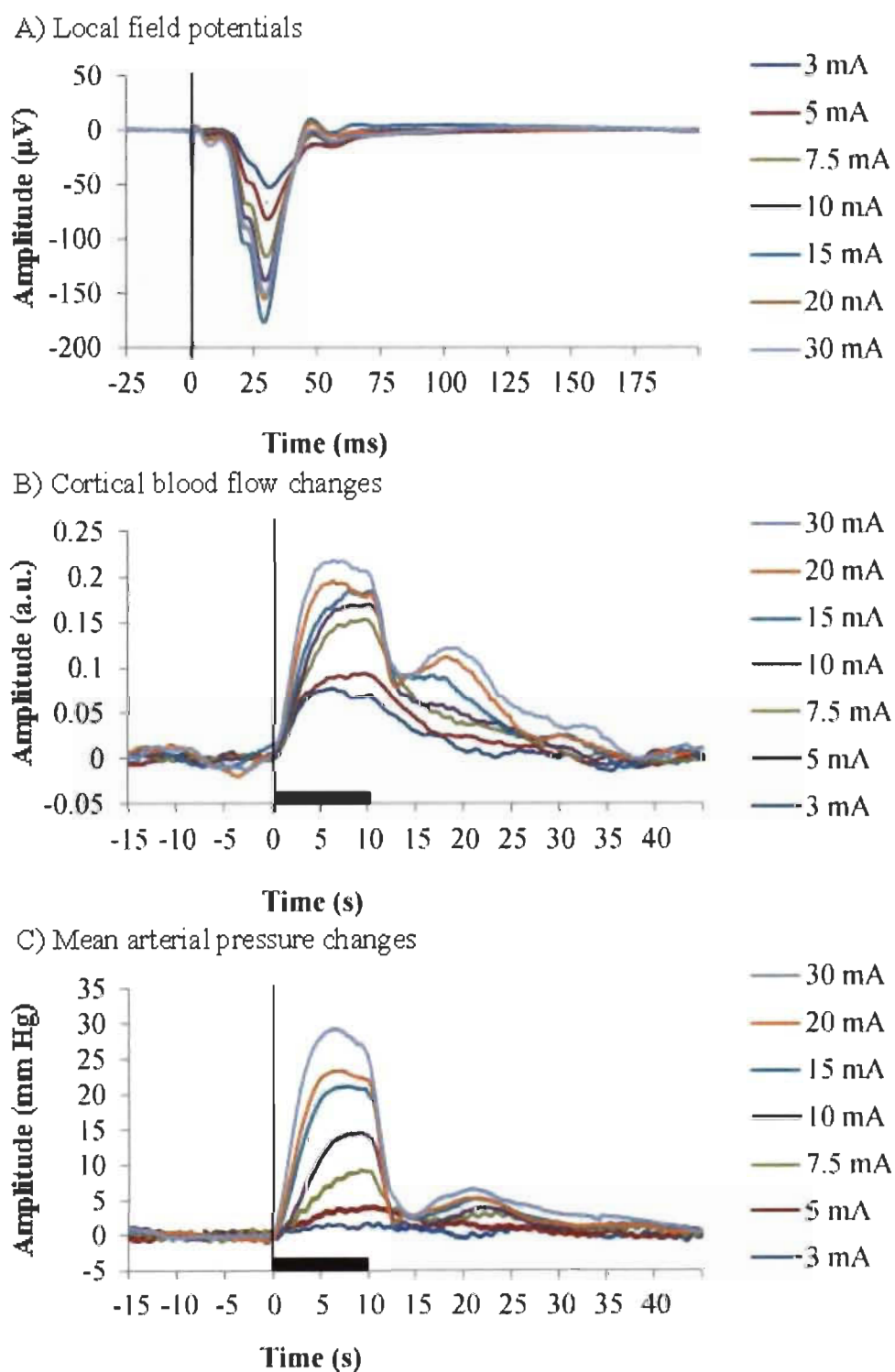
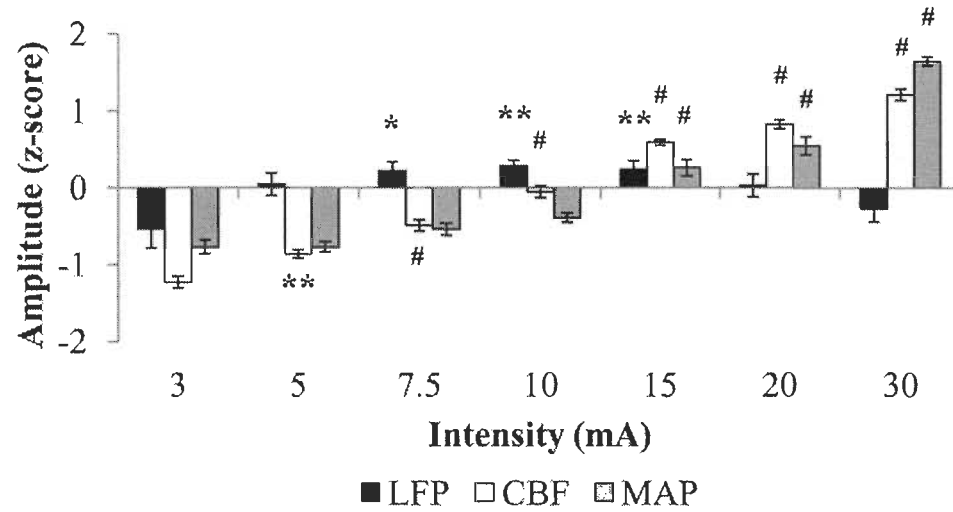


Figure 2

A) Shock-evoked changes



B) Neurovascular coupling

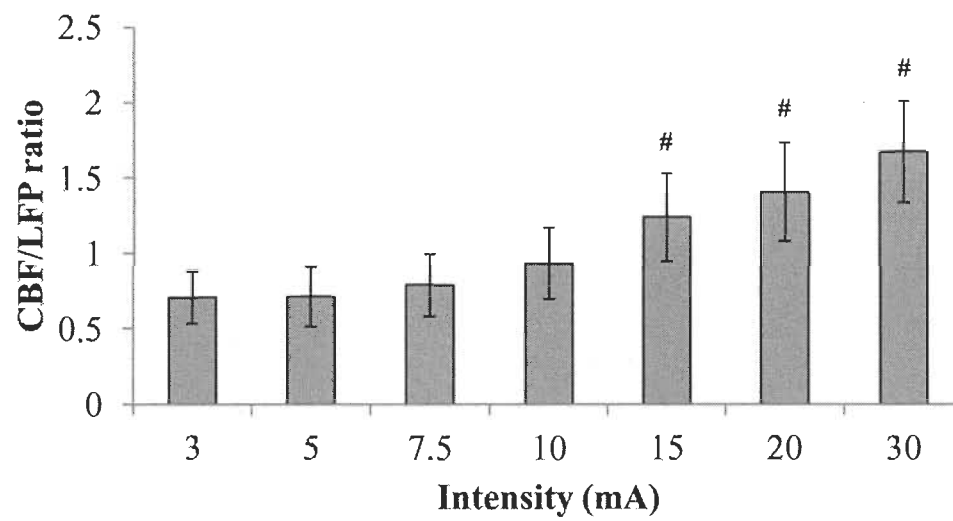
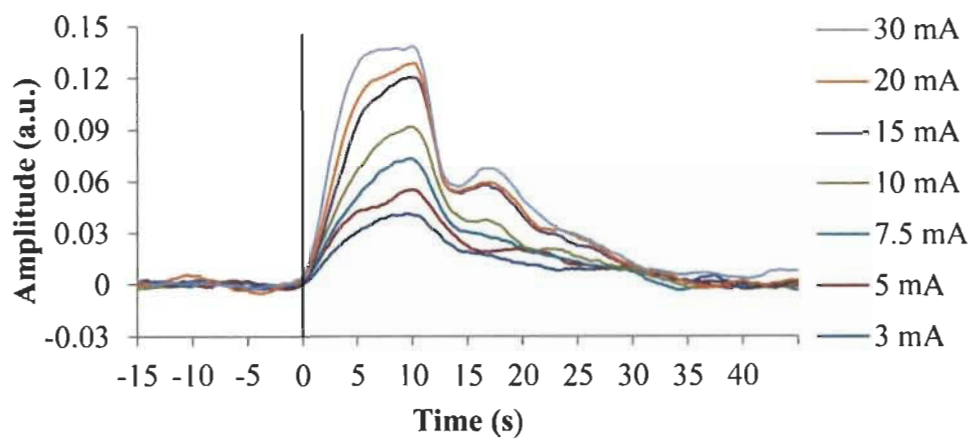


Figure 3

A) Cortical blood flow changes



B) Mean arterial pressure changes

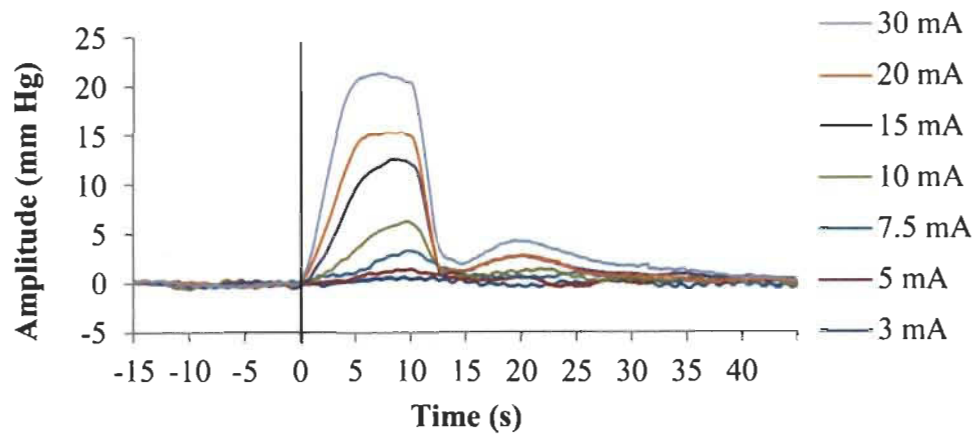
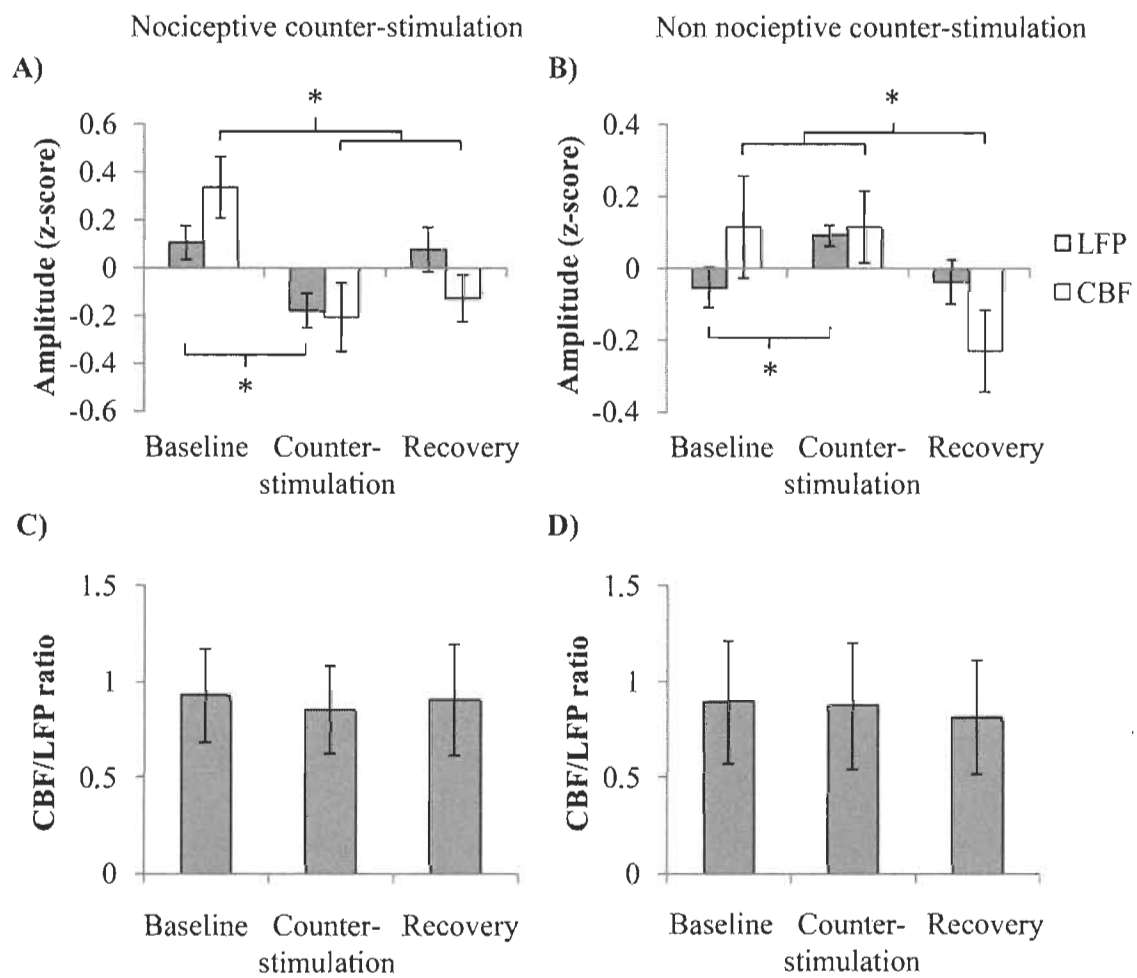


Figure 4



Reference list

- [1] Ances, B.M., J.H. Greenberg, and J.A. Detre, Effects of variations in interstimulus interval on activation-flow coupling response and somatosensory evoked potentials with forepaw stimulation in the rat. *J Cereb.Blood Flow Metab*, 2000. **20**(2): p. 290-297.
- [2] Ances, B.M., et al., Coupling of neural activation to blood flow in the somatosensory cortex of rats is time-intensity separable, but not linear. *J Cereb.Blood Flow Metab*, 2000. **20**(6): p. 921-930.
- [3] Apkarian, A.V., et al., Human brain mechanisms of pain perception and regulation in health and disease. *Eur.J Pain*, 2005. **9**(4): p. 463-484.
- [4] Barzo, P., et al., Significance of the rate of systemic change in blood pressure on the short-term autoregulatory response in normotensive and spontaneously hypertensive rats. *Neurosurgery*, 1993. **32**(4): p. 611-618.
- [5] Becerra, L., et al., *Reward circuitry activation by noxious thermal stimuli*. *Neuron*, 2001. **32**(5): p. 927-946.
- [6] Bekar, L.K., W. He, and M. Nedergaard, Locus coeruleus alpha-adrenergic-mediated activation of cortical astrocytes in vivo. *Cereb Cortex*, 2008. **18**(12): p. 2789-95.
- [7] Boorman, L., et al., Negative blood oxygen level dependence in the rat: a model for investigating the role of suppression in neurovascular coupling. *J Neurosci*, 2010. **30**(12): p. 4285-94.
- [8] Bushnell, M.C., et al., *Pain perception: is there a role for primary somatosensory cortex?* *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A*, 1999. **96**(14): p. 7705-7709.
- [9] Chen, J.I., et al., Differentiating noxious- and innocuous-related activation of human somatosensory cortices using temporal analysis of fMRI. *J.Neurophysiol.*, 2002. **88**(1): p. 464-474.
- [10] Devor, A., et al., Suppressed neuronal activity and concurrent arteriolar vasoconstriction may explain negative blood oxygenation level-dependent signal. *J.Neurosci.*, 2007. **27**(16): p. 4452-4459.
- [11] Erdos, B., et al., Mechanisms of pain-induced local cerebral blood flow changes in the rat sensory cortex and thalamus. *Brain Res.*, 2003. **960**(1-2): p. 219-227.

- [12] Fukuda, M., et al., *Effects of the alpha(2)-adrenergic receptor agonist dexmedetomidine on neural, vascular and BOLD fMRI responses in the somatosensory cortex*. Eur J Neurosci, 2013. **37**(1): p. 80-95.
- [13] Ghione, S., *Hypertension-associated hypalgesia. Evidence in experimental animals and humans, pathophysiological mechanisms, and potential clinical consequences*. Hypertension, 1996. **28**(3): p. 494-504.
- [14] Hernandez, M.J., R.W. Brennan, and G.S. Bowman, *Cerebral blood flow autoregulation in the rat*. Stroke, 1978. **9**(2): p. 150-4.
- [15] Hewson-Stoate, N., et al., *Further nonlinearities in neurovascular coupling in rodent barrel cortex*. Neuroimage., 2005. **24**(2): p. 565-574.
- [16] Huttunen, J.K., O. Grohn, and M. Penttonen, *Coupling between simultaneously recorded BOLD response and neuronal activity in the rat somatosensory cortex*. Neuroimage, 2008. **39**(2): p. 775-85.
- [17] Jones, M., et al., *Nonlinear coupling of neural activity and CBF in rodent barrel cortex*. Neuroimage., 2004. **22**(2): p. 956-965.
- [18] Jones, S.C., et al., *Variability in the magnitude of the cerebral blood flow response and the shape of the cerebral blood flow-pressure autoregulation curve during hypotension in normal rats [corrected]*. Anesthesiology, 2002. **97**(2): p. 488-496.
- [19] Kimme, P., T. Ledin, and F. Sjoberg, *Cortical blood flow autoregulation revisited using laser Doppler perfusion imaging*. Acta Physiol Scand., 2002. **176**(4): p. 255-262.
- [20] Kontos, H.A., et al., *Responses of cerebral arteries and arterioles to acute hypotension and hypertension*. Am J Physiol, 1978. **234**(4): p. H371-83.
- [21] Lamour, Y., G. Guilbaud, and J.C. Willer, *Rat somatosensory (SmI) cortex: II. Laminar and columnar organization of noxious and non-noxious inputs*. Exp.Brain Res., 1983. **49**(1): p. 46-54.
- [22] Lamour, Y., J.C. Willer, and G. Guilbaud, *Rat somatosensory (SmI) cortex: I. Characteristics of neuronal responses to noxious stimulation and comparison with responses to non-noxious stimulation*. Exp.Brain Res., 1983. **49**(1): p. 35-45.
- [23] LeBars, D., A.H. Dickenson, and J.M. Besson, *Diffuse noxious inhibitory controls (DNIC). I. Effects on dorsal horn convergent neurones in the rat*. Pain, 1979. **6**(3): p. 283-304.

- [24] LeBars, D., A.H. Dickenson, and J.M. Besson, *Diffuse noxious inhibitory controls (DNIC). II. Lack of effect on non-convergent neurones, supraspinal involvement and theoretical implications*. Pain, 1979. **6**(3): p. 305-327.
- [25] Lima, D., A. bino-Teixeira, and I. Tavares, *The caudal medullary ventrolateral reticular formation in nociceptive-cardiovascular integration. An experimental study in the rat*. Exp.Physiol, 2002. **87**(2): p. 267-274.
- [26] Loggia, M.L., et al., *Disentangling linear and nonlinear brain responses to evoked deep tissue pain*. Pain, 2012. **153**(10): p. 2140-51.
- [27] Martindale, J., et al., *Long duration stimuli and nonlinearities in the neural-haemodynamic coupling*. Journal of cerebral Blood flow and Metabolism, 2005. **25**: p. 651-661.
- [28] Morato, M., et al., *Inhibition of nociceptive responses of spinal cord neurones during hypertension involves the spinal GABAergic system and a pain modulatory center located at the caudal ventrolateral medulla*. J Neurosci Res, 2006. **83**(4): p. 647-55.
- [29] Moulton, E.A., et al., *BOLD responses in somatosensory cortices better reflect heat sensation than pain*. J Neurosci, 2012. **32**(17): p. 6024-31.
- [30] Ngai, A.C., et al., *Frequency-dependent changes in cerebral blood flow and evoked potentials during somatosensory stimulation in the rat*. Brain Res., 1999. **837**(1-2): p. 221-228.
- [31] Norup, N.A. and M. Lauritzen, *Coupling and uncoupling of activity-dependent increases of neuronal activity and blood flow in rat somatosensory cortex*. J Physiol, 2001. **533**(Pt 3): p. 773-785.
- [32] Paxinos, G.E. and C. Watson, *The rat brain in stereotaxic coordinates*. 1986, San Diego: Academic Press.
- [33] Piché, M., M. Arsenault, and P. Rainville, *Cerebral and cerebrospinal processes underlying counterirritation analgesia*. J.Neurosci., 2009. **29**(45): p. 14236-14246.
- [34] Raichle, M.E. and H.L. Stone, *Cerebral blood flow autoregulation and graded hypercapnia*. Eur.Neurol., 1971. **6**(1): p. 1-5.
- [35] Randich, A. and W. Maixner, *Interactions between cardiovascular and pain regulatory systems*. Neurosci.Biobehav.Rev., 1984. **8**(3): p. 343-367.

- [36] Randich, A. and J.D. Robertson, *Spinal nociceptive transmission in the spontaneously hypertensive and Wistar-Kyoto normotensive rat*. Pain, 1994. **58**(2): p. 169-83.
- [37] Rosengarten, B., O. Huwendiek, and M. Kaps, *Neurovascular coupling and cerebral autoregulation can be described in terms of a control system*. Ultrasound Med.Biol., 2001. **27**(2): p. 189-193.
- [38] Sato, A., Y. Sato, and R.F. Schmidt, *The impact of somatosensory input on autonomic functions*. Rev.Physiol Biochem.Pharmacol., 1997. **130**: p. 1-328.
- [39] Schouenborg, J., et al., *Field potentials evoked in rat primary somatosensory cortex (SI) by impulses in cutaneous A beta- and C-fibres*. Brain Res, 1986. **397**(1): p. 86-92.
- [40] Sheth, S., et al., *Evaluation of coupling between optical intrinsic signals and neuronal activity in rat somatosensory cortex*. Neuroimage, 2003. **19**(3): p. 884-894.
- [41] Sheth, S.A., et al., *Linear and nonlinear relationships between neuronal activity, oxygen metabolism, and hemodynamic responses*. Neuron, 2004. **42**(2): p. 347-355.
- [42] Tavares, I., et al., *Lesions of the caudal ventrolateral medulla block the hypertension-induced inhibition of noxious-evoked c-fos expression in the rat spinal cord*. Eur J Pain, 1997. **1**(2): p. 149-60.
- [43] Treede, R.D., et al., *The cortical representation of pain*. Pain, 1999. **79**(2-3): p. 105-111.
- [44] Ureshi, M., J. Kershaw, and I. Kanno, *Nonlinear correlation between field potential and local cerebral blood flow in rat somatosensory cortex evoked by changing the stimulus current*. Neurosci.Res., 2005. **51**(2): p. 139-145.
- [45] Verdier, D. and R.W. Dykes, *Long-term cholinergic enhancement of evoked potentials in rat hindlimb somatosensory cortex displays characteristics of long-term potentiation*. Exp.Brain Res., 2001. **137**(1): p. 71-82.
- [46] Vierck, C.J., et al., *Role of primary somatosensory cortex in the coding of pain*. Pain, 2013. **154**(3): p. 334-44.
- [47] Willer, J.C., T. DeBroucker, and D. LeBars, *Encoding of nociceptive thermal stimuli by diffuse noxious inhibitory controls in humans*. J Neurophysiol., 1989. **62**(5): p. 1028-1038.
- [48] Zamir, N. and W. Maixner, *The relationship between cardiovascular and pain regulatory systems*. Ann N Y Acad Sci, 1986. **467**: p. 371-84.

CHAPITRE III

DISCUSSION

Cette étude est la première à évaluer le couplage entre l'activité neuronale et les changements de débit sanguin induits par des stimulations nociceptives dans le cortex cérébral. Les résultats présentés confirment nos hypothèses et indiquent que le couplage neurovasculaire est altéré dans SI lors de stimulations à haute intensité et que ces changements sont fortement associés aux changements de pression artérielle moyenne. Cependant, lorsque l'intensité de la stimulation nociceptive demeure constante, comme lors du protocole de contre-stimulation, le couplage neurovasculaire n'est pas altéré par un autre stimulus nociceptif. En s'inspirant de la littérature scientifique actuelle, les mécanismes potentiellement impliqués dans ces résultats seront présentés, ainsi que les avenues de recherche à explorer à partir de ces nouvelles connaissances.

3.1 Altération du couplage neurovasculaire lors de stimulations nociceptives

À chacune des intensités utilisées dans cette étude, les stimulations électriques de la patte postérieure ont produit des changements robustes des potentiels de champ ainsi que du débit sanguin cérébral de SI par rapport au niveau de base. À une intensité de 3 et 5 mA, le couplage entre ces deux mesures était comparable. Toutefois, à partir de 7,5 mA, le ratio débit sanguin/potentiel de champ a augmenté, indiquant l'amorce d'une altération dans le couplage neurovasculaire. Cette altération a atteint un niveau significatif à 15, 20 et 30 mA, objectivant ainsi un changement dans la relation entre l'activité neuronale et les changements hémodynamiques. Ce résultat s'ajoute à ceux d'études précédentes ayant montré l'effet de l'intensité sur le couplage neurovasculaire pour des stimulations non nociceptives (Jones et al., 2004; Ureshi et al., 2005; Ances et al., 2000; Hewson-Stoate et al., 2005; Norup & Lauritzen, 2001). Ces auteurs suggèrent qu'à basses intensités, les stimulations n'induisaient pas une réponse neuronale

suffisamment importante pour engendrer une réponse vasculaire détectable. Ainsi, un seuil d'activité neuronale doit être dépassé pour obtenir une réponse hémodynamique. Selon les mêmes auteurs, bien que les stimulations d'intensités moyennes amènent des changements proportionnels d'activité neuronale et vasculaire, une deuxième phase de découplage est également observée pour les stimulations d'intensité supérieure au seuil de saturation des fibres de type A. Au-delà de ce seuil, l'augmentation de l'intensité de stimulation n'amène plus de modulation des potentiels de champ, alors que le débit sanguin cérébral continue d'augmenter. Comme le mentionne Hewson-Stoate et al. (2005), en inférant l'activité neuronale depuis la réponse vasculaire selon le modèle linéaire de couplage neurovasculaire, on sous-estime l'activité neuronale à basse intensité, alors que l'on surestime celle-ci lors de stimulation de hautes intensités. La saturation des fibres de type A est potentiellement impliquée dans l'altération du couplage observé dans la présente étude, toutefois, ce mécanisme ne peut pas expliquer la diminution de l'amplitude du potentiel de champ induit par une stimulation à haute intensité. Il est donc évident qu'un autre mécanisme est impliqué.

3.1.1 Effet de la pression artérielle sur l'activité neuronale

Une condition particulière à cette étude, et qui pourrait expliquer l'inhibition de la réponse neuronale lors de stimulations nociceptives est l'effet de l'intensité des stimulations sur la pression artérielle, et de celle-ci sur l'activité neuronale. Comme le montre la figure 1, la pression artérielle augmente significativement lors de la stimulation électrique de la patte postérieure gauche à des intensités de 15, 20 et 30 mA. Cette observation corrobore les résultats d'autres études sur l'impact des stimulations nociceptives sur le système cardiovasculaire (Noguchi et al., 1999; Sato, 1997), et serait attribuable à l'activation réflexe du système nerveux autonome au niveau de la moelle allongée ventrolatérale rostrale (RVLM; Figure 3.1) (Kawabe, Kawabe & Sapru, 2007). Dans notre étude, les intensités provoquant une augmentation de pression artérielle sont précisément celles où l'on observe une altération du couplage neurovasculaire et une diminution de l'amplitude des potentiels de champ. Un effet inhibiteur de la pression sur l'activité neuronale a déjà été rapporté dans la littérature. Lors d'études sur un modèle de

rat spontanément hypertensif (SHR) des signes comportementaux d'hypoalgésie ont été observés lors de présentation de stimulus nociceptif thermique (« tail-flick test », « hot-plate test »), mécanique ou électrique (« flinch-jump test ») (France, 1999; Ghione, 1996; Randich & Maixner, 1984; Randich & Robertson, 1994; Sitsen & de Jong, 1983; Zamir & Maixner, 1986). Ces résultats, obtenus par des mesures comportementales de la nociception, ont été confirmés par une inhibition de la transmission nociceptive spinale (Randich & Robertson, 1994). Dans leur étude sur les mécanismes neurophysiologiques de l'hypoalgésie par l'hypertension, Randich et Robertson (1994) ont noté une inhibition de la réponse des neurones à large gamme dynamique et nociceptifs spécifiques de la corne dorsale de rat SHR comparé à un groupe de rats contrôles (Wistar) lors d'une stimulation nociceptive thermique de la patte postérieure. Afin d'élucider le mécanisme impliqué, la même expérience a été répétée sur un groupe de rats avec une désafférentation sino-aortique bilatérale, un groupe avec une vagotomie bilatérale et un groupe traité à la naloxone (inhibiteur des récepteurs opioïdiques). Les résultats obtenus indiquent que les afférences sino-aortiques et les voies opioïdiques centrales participent à l'inhibition de la transmission nociceptive spinale lors d'hypertension. Ceci corrobore les conclusions d'autres études sur l'implication des contrôles descendants opioïdiques (Bruehl et al., 2010) et, entre autres, de la moelle allongée ventrolatérale caudale (CVLM) (Lima, Albino-Teixeira & Tavares, 2002; Tavares, Almeida, Albino-Teixeira & Lima, 1997; Morato, Pinho, Sousa, Tavares & Albino-Teixeira, 2006) sur l'inhibition de la nociception lors d'une augmentation transitoire de la pression artérielle d'environ 20 %. Dans la présente étude, les changements de pression artérielle significatifs induits par les stimulations nociceptives de 15, 20 et 30 mA représentent respectivement 10 %, 15 % et 24 % d'augmentation par rapport à une mesure préstimulus de la pression. En se basant sur les conclusions de Saavedra (1981), Lima et al. (2002) et Morato et al. (2006), cette hypertension transitoire active probablement les contrôles descendants de la douleur qui, à leur tour, inhibent l'activité nociceptive spinale (Figure 3.1). Puisque le système opioïdique est impliqué dans l'effet antinociceptif de l'hypertension, il serait intéressant d'étudier la contribution de l'hypertension à l'altération du couplage neurovasculaire en reproduisant un protocole

semblable à la présente étude en incluant l'injection d'un antagoniste des récepteurs opioïdiques, empêchant ainsi l'inhibition neuronale induite par l'hypertension.

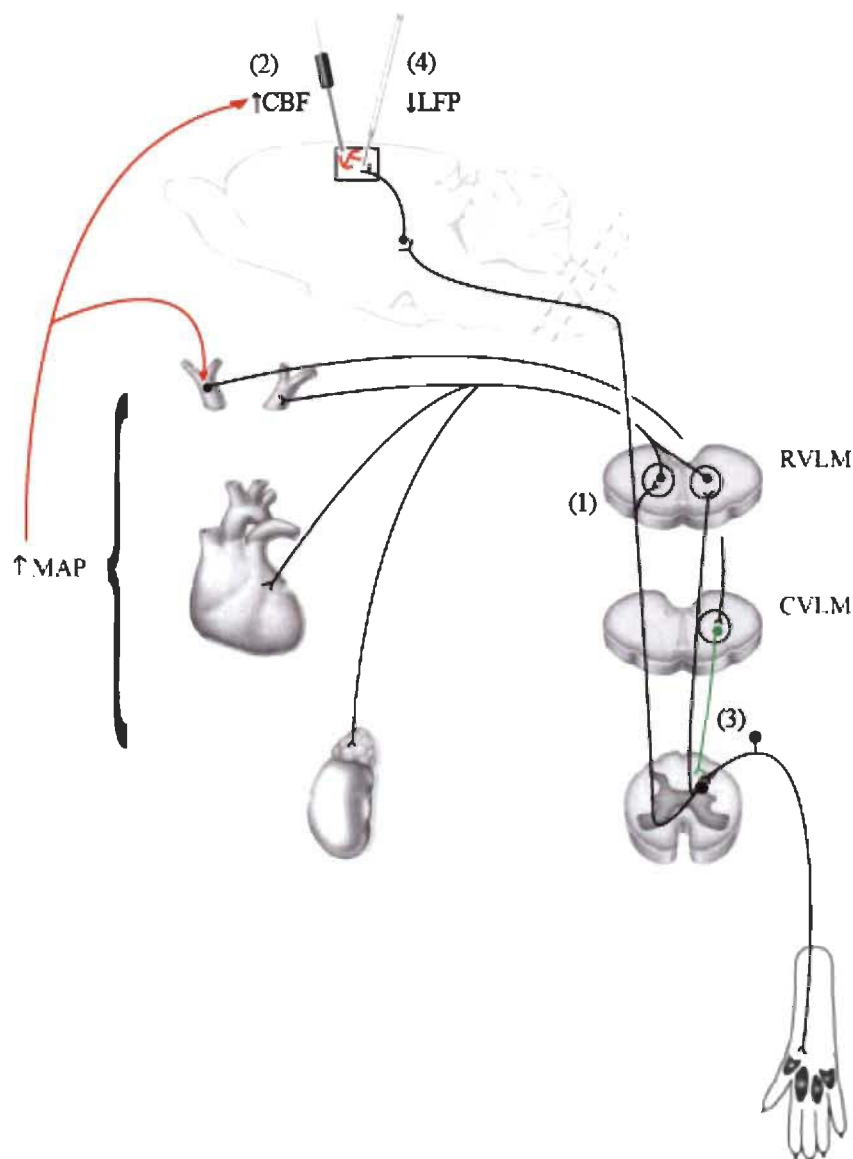


Figure 3.1 Mécanismes impliqués dans l'altération du couplage neurovasculaire lors de stimulations nociceptives.

(1) L'activation de la RVLM par la stimulation nociceptive induit une vasoconstriction, une augmentation du rythme cardiaque, ainsi que la sécrétion de catécholamines par la glande surrénale, provoquant une augmentation de la MAP. Cette augmentation de la MAP produit une augmentation du CBF (2) ainsi que l'activation de barorécepteurs transmettant à la CVLM. Des projections provenant de la CVLM vont ensuite inhiber l'activité nociceptive dans la corne dorsale (3) induisant ainsi une diminution des LFP enregistré dans SI (4).

3.1.2 Inhibition neuronale et changements hémodynamiques

Dans l'éventualité où l'augmentation de pression transitoire est responsable de la diminution de l'amplitude des potentiels de champ induits par la stimulation nociceptive, une diminution proportionnelle du débit sanguin cérébral aurait dû être observée. En effet, bien que certaines études suggèrent un découplage entre l'activité neuronale et métabolique en contexte d'inhibition neuronale (Ackermann et al., 1984; Tavares et al., 1997), la plupart des études récentes en IRMf et en imagerie optique confirment que l'inhibition neuronale est associée à une vasoconstriction artériolaire (Boorman et al., 2010; Devor et al., 2007; Piché, Uchida, Hara, Aikawa, & Hotta, 2010), et donc à une diminution de débit sanguin cérébral. Comme le montre la figure 1 de l'article, on constate plutôt une augmentation de la réponse hémodynamique induite par la stimulation. Ce résultat peut être expliqué par l'effet concomitant de l'augmentation de la pression artérielle sur le débit sanguin cérébral.

3.1.3 Effet de l'activation sympathique sur les changements hémodynamiques

Les changements vasculaires systémiques, malgré les mécanismes autorégulateurs locaux, peuvent influencer les changements hémodynamiques associés à l'activité neuronale, tels que le débit sanguin cérébral. En effet, le débit sanguin cortical et le signal BOLD sont modulés proportionnellement à l'hypertension transitoire induite chez le rat (Qiao et al., 2006; Wang et al., 2006; Erdos et al., 2003; Tuor et al., 2002). Lors de stimulations électriques de la patte antérieure et d'hypertension concomitante induite par injection i.v. de noradrénaline (vasoconstricteur), le signal BOLD a été modulé de façon additive par les 2 stimuli (Qiao et al., 2006). Par contre, cela semble moins clair concernant l'ajustement du débit sanguin cérébral. En effet, malgré l'effet de l'hypertension seule sur celui-ci, le débit sanguin cérébral induit par la stimulation électrique de la patte antérieure ne semble pas influencé par l'augmentation concomitante de la pression artérielle par l'injection de noradrénaline (Qiao et al., 2006). Cela indique que les mécanismes autorégulateurs locaux ont permis de garder l'apport sanguin constant. Toutefois, comme l'ont indiqué Tuor et al. (2002), la réponse autorégulatrice ne compense pas toujours efficacement l'augmentation de pression

artérielle, en particulier lors de changements de pression extrême ou rapide (Tuor, 1992). À l'aide d'une sonde laser Doppler, une étude a notamment révélé l'absence d'autorégulation locale au niveau du cortex lors d'augmentation de pression artérielle (Kimme et al., 2002). Ces résultats indiquent que l'autorégulation « classique » (Figure 1.1) est observée lorsque plusieurs sites d'enregistrement sont regroupés et moyennés entre eux, mais que le débit sanguin cérébral de chacun de ces sites réagit de façon aléatoire. Selon les auteurs, puisque le signal de la sonde laser Doppler dépend de la vitesse des cellules sanguines et de leur concentration (Barfod C, Akgören N, Fabricius M, Dirnagl U & Lauritzen M, 1997; Nilsson, 1984), la variabilité de distribution des vaisseaux sanguins pourrait expliquer ce résultat. La variabilité du phénomène d'autorégulation a également été observée dans un protocole d'hypotension chez le rat (Jones et al., 2002). Encore une fois, la distribution des vaisseaux sanguins semble être une cause possible expliquant l'impact de la pression sur le signal provenant de la sonde laser Doppler (Lübbers & Baumgartl, 1997). Dans la présente étude, il n'est pas possible d'évaluer ce phénomène, cependant les résultats obtenus confirment l'impact de la MAP sur le CBF (Figure 3.1). Par contre, suite à notre expérience, nous ne pouvons confirmer dans quelles proportions l'activité neuronale induite par la stimulation et la pression artérielle ont contribué aux changements hémodynamiques cérébraux observés. Pour répondre à cette question, une étude subséquente pourrait être réalisée lors de laquelle une deuxième sonde Doppler serait apposée à un site cortical dépourvu d'activité neuronale lors de la stimulation nociceptive, mais tout de même sensible à l'augmentation de la pression artérielle. La différence d'amplitude de la réponse vasculaire enregistrée par la sonde apposée au site d'activité neuronale et celle apposée à un site voisin serait alors induite par l'activité neuronale induite par la stimulation nociceptive.

Dans un deuxième temps, l'activation du système nerveux sympathique par les stimulations nociceptives induit la relâche de NO par les terminaisons nerveuses périvasculaires dans le parenchyme cérébral (Erdos et al., 2003). Cela induirait une vasodilatation additive à celle causée par le couplage neurovasculaire en faisant intervenir les voies vasoactives sous-corticales du locus coeruleus, du NBM et des

noyaux du raphé et la relâche de NA ainsi que d'ACh. Cependant, les mécanismes impliqués sont encore méconnus à ce jour (Hamel, 2006).

3.1.4 Caractéristiques spatiales de l'activité neuronale dans SI et influence sur le couplage neurovasculaire

Enfin, il est important de noter que la taille de la zone d'activité neuronale et de débit sanguin cortical enregistré, respectivement avec l'électrode et avec la sonde laser Doppler, est relativement petite et ne permet pas l'évaluation complète de la réponse physiologique à la stimulation. Selon les résultats présentés dans l'étude de Devor et al. (2003), une augmentation de l'étendue de la zone corticale activée aurait probablement été remarquée. En effet, Shaw et al. (1999) en ont fait l'observation dans SI chez le rat en comparant l'amplitude et l'étendue des potentiels de champ induits par des stimulations nociceptives, d'origine thermique ou électrique, à ceux provoqués par des stimulations non nociceptives. Ce phénomène est un mécanisme potentiellement impliqué dans l'altération du couplage neurovasculaire, car comme l'ont observé Devor et al. (2005), l'étendue spatiale d'activité neuronale perturbe la réponse hémodynamique. En effet, plus la zone activée est grande, plus la réponse hémodynamique est importante. Une étude subséquente avec une technologie permettant l'enregistrement d'une région corticale plus étendue, comme l'imagerie par contraste « laser speckle », permettrait d'évaluer cette hypothèse. Par contre, cette méthode est très limitée en terme de profondeur de champ, puisque les changements mesurés proviennent d'une région inférieure à 100 microns de profondeur, ce qui est très différent de la sonde Doppler et certainement très loin de l'enregistrement des potentiels de champs à 600 microns de profondeur.

3.2 Effet de la contre-stimulation sur le couplage neurovasculaire dans SI

Notre deuxième objectif était d'évaluer le couplage neurovasculaire dans SI lors de la contre-stimulation. Cette question est particulièrement intéressante à étudier puisque la contre-stimulation produit un mélange complexe d'inhibition et d'activation

neuronale (Lamour et al., 1983), et qu'il est par le fait même possible qu'il y ait perturbation de la relation entre l'activité neuronale et les changements hémodynamiques associés. Il est d'autant plus important de définir adéquatement cette relation puisque la modulation de l'activité neuronale induite par la contre-stimulation est un phénomène de plus en plus étudié en IRMf et, comme il a été mentionné plus tôt dans ce travail, la mesure en IRMf décrit indirectement l'activité neuronale en s'appuyant sur les changements hémodynamiques cérébraux (Logothetis et al., 2001; Logothetis, 2002; Logothetis & Pfeuffer, 2004; Boorman et al., 2010; Harris et al., 2010; Huttunen et al., 2008; Kida & Yamamoto, 2010; Lippert et al., 2010; Viswanathan & Freeman, 2007). Notre hypothèse était que le couplage neurovasculaire serait comparable entre les conditions (niveau de base, contre-stimulation, récupération), malgré qu'il puisse être altéré par la stimulation électrique en soi. Tel que prévu, les potentiels de champ et le débit sanguin cérébral ont été inhibés de façon proportionnelle lors de la contre-stimulation nociceptive. Toutefois, nous nous attendions à une diminution plus importante de l'activité neuronale et des changements hémodynamiques associés. En effet, une étude antérieure a confirmé l'inhibition de 60-100 % de l'activité nociceptive des neurones à large gamme dynamique (WDR) par la contre-stimulation dans la corne dorsale chez le rat (Le Bars et al., 1979). Plus précisément, l'activité induite par l'activation des fibres A β a été inhibée de 80 %, alors que celle induite par l'activation des fibres C a été inhibée de 60-100 %. Cependant, les mêmes auteurs ont également observé que cet effet est spécifique aux neurones WDR, puisqu'aucune inhibition n'a été mesurée pour les neurones non-nociceptifs et nociceptifs spécifiques. L'inhibition sélective des neurones WDR pourrait expliquer en partie la faible modulation de l'activité neuronale dans SI par la contre-stimulation dans la présente étude. Toutefois, il est possible que l'inhibition de la transmission nociceptive par la contre-stimulation ne soit pas l'unique mécanisme impliqué dans la modulation de l'activité dans SI. Lors de la contre-stimulation, la proximité des sites d'hyperhémie fonctionnelle dans SI (celui de la patte postérieure gauche et celui de la queue) peut mener à un transfert passif du sang d'un site à l'autre. L'influence de ce « vascular steal » dans nos résultats sera discutée.

3.2.1 Inhibition sélective des neurones à large gamme dynamique

Dans notre étude, l'amplitude des potentiels de champ a diminué de 7 %, alors que la réponse vasculaire, quant à elle, a été modulée à la baisse de 10 % par la contre-stimulation. Cette modulation semble bien modeste, surtout lorsqu'on prend en considération l'inhibition de l'activité nociceptive des neurones WDR de la corne dorsale rapportée par Le Bars et al. (1979). Notre étude ne se limite toutefois pas à l'effet de la contre-stimulation sur les neurones WDR. Contrairement à l'étude de Le Bars et al. (1979), nous n'avons pas évalué dans la présente étude quels types d'afférences étaient modulés par la contre-stimulation dans SI. Dans la littérature, on évoque la participation de l'activité des fibres A β au potentiel de champ, à une latence d'environ 6-12 ms suite à une stimulation électrique du nerf sural (Schouenborg, Kalliomäki, Gustavsson & Rosen, 1986). De plus, Jaw et al. (2009) ont observé un signal d'une latence de 50 ms dans SI suite à une stimulation nociceptive de la queue au laser à CO₂, correspondant à l'activité afférente des fibres A δ . Ces études, bien qu'utilisant des stimulations différentes, suggèrent que l'amplitude des potentiels de champ mesurés dans une fenêtre de 60 ms post-stimulus reflète l'activation des fibres A β et A δ . Cela suggère que l'activité de ces types de fibre, propageant des informations nociceptives et non-nociceptives, influence également les potentiels de champ dans nos travaux. Cependant, il demeure impossible d'évaluer quels types de cellules (non-nociceptive, nociceptive spécifique ou WDR) transmettent ces afférences A β et A δ . Constatant la faible inhibition de l'activité nociceptive dans SI, nous émettons l'hypothèse qu'une partie de notre signal LFP provenait de l'activité de neurones non nociceptifs ou exclusivement nociceptifs, car ces cellules ne sont pas influencées par la contre-stimulation. (Le Bars, Dickenson & Besson, 1979). Ainsi, l'activité nociceptive transmise par les neurones WDR est inhibé par les CIDN, alors que les autres types de cellules continuent d'acheminer l'influx nerveux vers SI. Cette possibilité expliquerait la modulation modeste de l'activité nociceptive enregistrée dans SI par rapport à celle mesurée dans la corne dorsale par Le Bars et al. (1979).

Dans un deuxième temps, il est également reconnu que l'amplitude de l'inhibition dépend de l'endroit choisi pour effectuer la contre-stimulation, les plus efficaces étant la

queue et le museau, suivi des membres supérieurs et inférieurs (Le Bars et al., 1979). Toutefois, puisque la queue a été le site sélectionné pour la contre-stimulation dans notre étude de même que dans celle de Le Bars et al. (1979), ce principe ne peut être en cause dans la différence d'inhibition observée dans ces deux études.

3.2.2 « Vascular steal effect » et contre-stimulation

Un deuxième mécanisme potentiellement impliqué dans l'inhibition de l'activité nociceptive dans SI lors de la contre-stimulation, mais uniquement pour la réponse de CBF, est un phénomène passif connu sous le nom de « vascular steal ». Comme le rapporte Lorthois et al. (2011) dans leur étude sur l'adaptation des artérioles intracorticales à des variations de débit sanguin cortical, une vasodilatation locale des artérioles amène une diminution du volume et du débit sanguin dans les troncs artériolaires voisins situés à une distance allant de 300 μm à plus de 1 cm. Cette étude confirme les résultats d'autres travaux sur un modèle vasculaire simulant l'anatomie du cortex des mammifères (Boas, Jones, Devor, Huppert & Dale, 2008; Lorthois, Cassot & Lauwers, 2011). Chez le vivant, une diminution du volume sanguin due au « vascular steal » a également été observée dans le cortex visuel de chat (Harel, Lee, Nagaoka, Kim & Kim, 2002). Dans la présente étude, il est possible que la stimulation concomitante de la queue, et donc le déclenchement d'un deuxième foyer d'activité neuronale dans SI, induise un « vascular steal » ayant comme effet de diminuer le CBF au site d'enregistrement. Les résultats obtenus dans la présente étude nous amènent toutefois à minimiser l'impact d'un tel mécanisme dû à la concordance entre la modulation de la réponse CBF et l'activité neuronale lors de la contre-stimulation. Nos résultats confirment ainsi une inhibition modeste de l'activité nociceptive dans SI par la contre-stimulation nociceptive telle que suggérée par une étude d'imagerie par résonance magnétique fonctionnelle chez l'humain (Piché et al., 2009). Nos résultats suggèrent également que l'inhibition du signal BOLD observée dans cette étude lors de la contre-stimulation est d'origine neurophysiologique et non le simple résultat du « vascular steal ».

3.3 Retombées et directions futures

Les résultats présentés dans ce mémoire ont des répercussions pour l'étude des processus reliés à la douleur utilisant des techniques de neuroimagerie telle l'IRMf. Le résultat le plus surprenant est l'impact de l'augmentation de la pression artérielle moyenne induite par la stimulation nociceptive sur le débit sanguin cérébral, et ce, en dépit des mécanismes d'autorégulation existants. Ce résultat explique l'altération du couplage neurovasculaire à des intensités élevées de stimulation électrique. Bien que des études antérieures aient déjà observé ce phénomène pour des stimulations non-nociceptives (Jones et al., 2004; Ances et al., 2000; Hewson-Stoate et al., 2005; Norup & Lauritzen, 2001), cette étude révèle des mécanismes différents lors de stimulations nociceptives. Il serait toutefois pertinent de mesurer le couplage neurovasculaire lors d'activation des fibres C afin d'évaluer l'impact de celles-ci sur les changements hémodynamiques cérébraux. Pour ce faire, la stimulation directe du nerf sural serait pertinente. Enfin, une étude en IRMf avec un enregistrement des potentiels évoqués lors de stimulations nociceptives, produisant une augmentation de pression artérielle, permettrait de confirmer ces résultats chez l'humain.

Nous reconnaissons que l'augmentation rapide de pression artérielle lors de stimulations nociceptives peut entraîner un biais dans l'interprétation des changements hémodynamiques cérébraux associés à l'activité neuronale. Malgré cette altération du couplage neurovasculaire, on constate qu'elle survient spécifiquement lorsque l'intensité de la stimulation est modifiée au-delà du seuil induisant une augmentation de la pression artérielle. En effet, les différentes conditions de contre-stimulation n'ont pas altéré le couplage neurovasculaire lorsque l'intensité demeurait constante. En d'autres mots, si le protocole expérimental n'induit pas de modification de pression artérielle d'une condition à l'autre, les changements hémodynamiques tels que mesurés en IRMf sont une mesure indirecte fiable de l'activité neuronale. Si toutefois une variation de l'intensité des stimulations, et donc de la pression artérielle moyenne, est indispensable aux fins de l'étude, un contrôle supplémentaire devrait être utilisé.

3.4 Conclusion

Pour conclure, cette étude confirme que les stimulations nociceptives entraînent des changements hémodynamiques cérébraux non reliés à l'activité neuronale, tels qu'une augmentation de pression artérielle systémique, et que ceci peut entraîner une altération du couplage neurovasculaire dans SI. Ce résultat est important pour l'étude de la douleur et la nociception avec des techniques de neuroimagerie se basant sur ce couplage, tel que l'imagerie par résonance magnétique fonctionnelle. En effet, il semble préférable que l'effet de la pression artérielle sur le débit sanguin cérébral soit considéré lorsque l'activité neuronale est inférée depuis l'observation de la modulation du signal BOLD en IRMf. Toutefois, les résultats de cette étude tendent à montrer qu'il n'est pas toujours impératif de contrôler la pression artérielle lors d'études sur la nociception en IRMf. En effet, même si les stimulations nociceptives utilisées dans le protocole de contre-stimulation entraînent des changements de la pression artérielle, la modulation de l'activité nociceptive par la contre-stimulation n'a pas altéré le couplage neurovasculaire. Cela suggère que les changements hémodynamiques cérébraux, ainsi que le signal BOLD, reflètent les changements d'activité neuronale dans SI lors d'étude sur la contre-stimulation en imagerie par résonance magnétique fonctionnelle.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Ackermann, R. F., Finch, D. M., Babb, T. L. & Engel, J. J. r. (1984). Increased glucose metabolism during long-duration recurrent inhibition of hippocampal pyramidal cells. *Journal of Neuroscience*, 4, 251-264.
- Ances, B. M., Greenberg, J. H. & Detre, J. A. (2000). Effects of variations in interstimulus interval on activation-flow coupling response and somatosensory evoked potentials with forepaw stimulation in the rat. *J.Cereb.Blood Flow Metab*, 20, 290-297.
- Ances, B. M., Zarahn, E., Greenberg, J. H. & Detre, J. A. (2000). Coupling of neural activation to blood flow in the somatosensory cortex of rats is time-intensity separable, but not linear. *J.Cereb.Blood Flow Metab*, 20, 921-930.
- Ances, B. M. (2004). Coupling of Changes in Cerebral Blood Flow with Neural Activity[colon] What Must Initially Dip Must Come Back Up. *J Cereb Blood Flow Metab*, 24, 1-6.
- Ances, B. M., Buerk, D. G., Greenberg, J. H. & Detre, J. A. (2002). Simultaneous measurements of brain tissue pO₂ and cerebral blood flow during functional stimulation. *International Congress Series*, 1235, 155-163.
- Angenstein, F., Kammerer, E. & Scheich, H. (2009). The BOLD Response in the Rat Hippocampus Depends Rather on Local Processing of Signals than on the Input or Output Activity. A Combined Functional MRI and Electrophysiological Study. *The Journal of Neuroscience*, 29, 2428-2439.
- Apkarian, A. V., Bushnell, M. C., Treede, R. D. & Zubieta, J. K. (2005). Human brain mechanisms of pain perception and regulation in health and disease. *Eur.J Pain*, 9, 463-484.
- Apkarian, A. V., Bushnell, M. C., Treede, R. D. & Zubieta, J. K. (2005). Human brain mechanisms of pain perception and regulation in health and disease. *Eur.J.Pain*, 9, 463-484.
- Attwell, D., Buchan, A. M., Charkpak, S., Lauritzen, M., MacVicar, B. A. & Newman, E. A. (2010). Glial and neuronal control of brain blood flow. *Nature*, 468, 232-243.
- Barfod C, Akgören N, Fabricius M, Dirnagl U & Lauritzen M (1997). Laser-Doppler measurements of concentration and velocity of moving blood cells in rat cerebral circulation. *Acta Physiol Scand*, 160, 123-132.

- Berwick, J., Johnston, D., Jones, M., Martindale, J., Martin, C., Kennerley, A. J. et al. (2008). Fine Detail of Neurovascular Coupling Revealed by Spatiotemporal Analysis of the Hemodynamic Response to Single Whisker Stimulation in Rat Barrel Cortex. *Journal of Neurophysiology*, 99, 787-798.
- Berwick, J., Johnston, D., Jones, M., Martindale, J., Redgrave, P., McLoughlin, N. et al. (2005). Neurovascular coupling investigated with two-dimensional optical imaging spectroscopy in rat whisker barrel cortex. *Eur.J Neurosci.*, 22, 1655-1666.
- Boas, D. A., Jones, S. R., Devor, A., Huppert, T. J. & Dale, A. M. (2008). A vascular anatomical network model of the spatio-temporal response to brain activation. *Neuroimage.*, 40, 1116-1129.
- Boorman, L., Kennerley, A. J., Johnston, D., Jones, M., Zheng, Y., Redgrave, P. et al. (2010). Negative Blood Oxygen Level Dependence in the Rat: A Model for Investigating the Role of Suppression in Neurovascular Coupling. *The Journal of Neuroscience*, 30, 4285-4294.
- Bruehl, S., Burns, J., Chung, O., Magid, E., Chont, M., Gilliam, W. et al. (2010). Hypoalgesia associated with elevated resting blood pressure: evidence for endogenous opioid involvement. *Journal of Behavioral Medicine*, 33, 168-176.
- Buerk, D. G., Ances, B. M., Greenberg, J. H. & Detre, J. A. (2003). Temporal Dynamics of Brain Tissue Nitric Oxide during Functional Forepaw Stimulation in Rats. *Neuroimage*, 18, 1-9.
- Buxton, R. B., Uludag, K., Dubowitz, D. J. & Liu, T. T. (2004). Modeling the hemodynamic response to brain activation. *Neuroimage.*, 23 Suppl 1, S220-S233.
- Buxton, R. B. (2001). The Elusive Initial Dip. *Neuroimage*, 13, 953-958.
- Buxton, R. B. & Frank, L. R. (1997). A Model for the Coupling Between Cerebral Blood Flow and Oxygen Metabolism During Neural Stimulation. *J Cereb Blood Flow Metab*, 17, 64-72.
- Buzsaki, G., Kaila, K. & Raichle, M. (2007). Inhibition and Brain Work. *Neuron*, 56, 771-783.
- Caesar, K., Thomsen, K. & Lauritzen, M. (2003). Dissociation of spikes, synaptic activity, and activity-dependent increments in rat cerebellar blood flow by tonic synaptic inhibition. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A*, 100, 16000-16005.

- Caesar, K., Thomsen, K. & Lauritzen, M. (2003). Dissociation of spikes, synaptic activity, and activity-dependent increments in rat cerebellar blood flow by tonic synaptic inhibition. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 100, 16000-16005.
- Cauli, B. (2010). Revisiting the role of neurons in neurovascular coupling. *Frontiers in Neuroenergetics*, 2.
- Colonnese, M. T., Phillips, M. A., Constantine-Paton, M., Kaila, K. & Jasanoff, A. (2008). Development of hemodynamic responses and functional connectivity in rat somatosensory cortex. *Nat Neurosci*, 11, 72-79.
- Devonshire, I. M., Papadakis, N. G., Port, M., Berwick, J., Kennerley, A. J., Mayhew, J. E. W. et al. (2012). Neurovascular coupling is brain region-dependent. *Neuroimage*, 59, 1997-2006.
- Devor, A., Dunn, A. K., Andermann, M. L., Ulbert, I., Boas, D. A. & Dale, A. M. (2003). Coupling of total hemoglobin concentration, oxygenation, and neural activity in rat somatosensory cortex. *Neuron*, 39, 353-359.
- Devor, A., Tian, P., Nishimura, N., Teng, I. C., Hillman, E. M., Narayanan, S. N. et al. (2007). Suppressed neuronal activity and concurrent arteriolar vasoconstriction may explain negative blood oxygenation level-dependent signal. *Journal of Neuroscience*, 27, 4452-4459.
- Devor, A., Ulbert, I., Dunn, A. K., Narayanan, S. N., Jones, S. R., Andermann, M. L. et al. (2005). Coupling of the cortical hemodynamic response to cortical and thalamic neuronal activity. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A*, 102, 3822-3827.
- Drew, P. J., Shih, A. Y. & Kleinfeld, D. (2011). Fluctuating and sensory-induced vasodynamics in rodent cortex extend arteriole capacity. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 108, 8473-8478.
- Duerden, E. G. & Albanese, M. C. (2011). Localization of pain-related brain activation: A meta-analysis of neuroimaging data. *Human Brain Mapping*, n/a.
- Ekstrom, A. (2010). How and when the fMRI BOLD signal relates to underlying neural activity: The danger in dissociation. *Brain Research Reviews*, 62, 233-244.
- Erdos, B., Lacza, Z., Toth, I. E., Szelke, E., Mersich, T., Komjati, K. et al. (2003). Mechanisms of pain-induced local cerebral blood flow changes in the rat sensory cortex and thalamus. *Brain Research*, 960, 219-227.
- Fox, P. T., Raichle, M. E., Mintun, M. A. & Dence, C. (1988). Nonoxidative glucose consumption during focal physiologic neural activity. *Science*, 241, 462-464.

- France, C. R. (1999). Decreased pain perception and risk for hypertension: considering a common physiological mechanism. *Psychophysiology*, 36, 683-692.
- Franceschini, M. A., Nissilä, I., Wu, W., Diamond, S. G., Bonmassar, G. & Boas, D. A. (2008). Coupling between somatosensory evoked potentials and hemodynamic response in the rat. *Neuroimage*, 41, 189-203.
- Friston, K. J., Mechelli, A., Turner, R. & Price, C. J. (2000). Nonlinear Responses in fMRI: The Balloon Model, Volterra Kernels, and Other Hemodynamics. *Neuroimage*, 12, 466-477.
- Frostig, R. D., Lieke, E. E., Ts'o, D. Y. & Grinvald, A. (1990). Cortical functional architecture and local coupling between neuronal activity and the microcirculation revealed by in vivo high-resolution optical imaging of intrinsic signals. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 87, 6082-6086.
- Ghione, S. (1996). Hypertension-Associated Hypalgesia. *Hypertension*, 28, 494-504.
- Goense, J. B. M. & Logothetis, N. K. (2008). Neurophysiology of the BOLD fMRI Signal in Awake Monkeys. *Current Biology*, 18, 631-640.
- Gold, C., Henze, D. A., Koch, C. & Buzsáki, G. (2006). On the Origin of the Extracellular Action Potential Waveform: A Modeling Study. *Journal of Neurophysiology*, 95, 3113-3128.
- Hamel, E. (2006). Perivascular nerves and the regulation of cerebrovascular tone. *J Appl. Physiol*, 100, 1059-1064.
- Harel, N., Lee, S. P., Nagaoka, T., Kim, D. S. & Kim, S. G. (2002). Origin of Negative Blood Oxygenation Level-Dependent fMRI Signals. *J Cereb Blood Flow Metab*, 22, 908-917.
- Harris, S., Jones, M., Zheng, Y. & Berwick, J. (2010). Does neural input or processing play a greater role in the magnitude of neuroimaging signals? *Frontiers in Neuroenergetics*, 2.
- Hernandez, M. J., Brennan, R. W. & Bowman, G. S. (1978). Cerebral blood flow autoregulation in the rat. *Stroke*, 9, 150-154.
- Hewson-Stoate, N., Jones, M., Martindale, J., Berwick, J. & Mayhew, J. (2005). Further nonlinearities in neurovascular coupling in rodent barrel cortex. *Neuroimage*, 24, 565-574.

- Huettel, S. A., Song, A. W. & McCarthy, G. (2004). BOLD fMRI. In *Functional Magnetic Resonance Imaging* (First edition ed., pp. 159-184). Sunderland, MA: Sinauer Associates Inc.
- Huttunen, J. K., Gröhn, O. & Penttonen, M. (2008). Coupling between simultaneously recorded BOLD response and neuronal activity in the rat somatosensory cortex. *Neuroimage*, 39, 775-785.
- Iadecola, C. & Nedergaard, M. (2007). Glial regulation of the cerebral microvasculature. *Nat Neurosci*, 10, 1369-1376.
- Jaw, F. S., Kao, Y. C., Chen, C. P. & Liao, W. L. (2009). Cerebral columnar organization of the first nociceptive component induced by CO₂ laser on the tail of the rat. *Neuroscience*, 158, 945-950.
- Jones, M., Hewson-Stoate, N., Martindale, J., Redgrave, P. & Mayhew, J. (2004). Nonlinear coupling of neural activity and CBF in rodent barrel cortex. *Neuroimage*, 22, 956-965.
- Jones, M., Berwick, J., Hewson-Stoate, N., Gias, C. & Mayhew, J. (2005). The effect of hypercapnia on the neural and hemodynamic responses to somatosensory stimulation. *Neuroimage*, 27, 609-623.
- Jones, M., Berwick, J., Johnston, D. & Mayhew, J. (2001). Concurrent Optical Imaging Spectroscopy and Laser-Doppler Flowmetry: The Relationship between Blood Flow, Oxygenation, and Volume in Rodent Barrel Cortex. *Neuroimage*, 13, 1002-1015.
- Jones, M., Devonshire, I. M., Berwick, J., Martin, C., Redgrave, P. & Mayhew, J. (2008). Altered neurovascular coupling during information-processing states. *European Journal of Neuroscience*, 27, 2758-2772.
- Jones, S. C., Radinsky, C. R., Furlan, A. J., Chyatte, D., Qu, Y., Easley, K. A. et al. (2002). Variability in the magnitude of the cerebral blood flow response and the shape of the cerebral blood flow-pressure autoregulation curve during hypotension in normal rats [corrected]. *Anesthesiology*, 97, 488-496.
- Kalliomäki, J., Weng, H.-R., Nilsson, H.-J. & Schouenborg, J. (1993). Nociceptive C fibre input to the primary somatosensory cortex (SI). A field potential study in the rat. *Brain Research*, 622, 262-270.
- Katzner, S., Nauhaus, I., Benucci, A., Bonin, V., Ringach, D. L. & Carandini, M. (2009). Local Origin of Field Potentials in Visual Cortex. *Neuron*, 61, 35-41.
- Kawabe, T., Kawabe, K. & Sapru, H. N. (2007). Cardiovascular Responses to Somatosensory Stimulation and Their Modulation by Baroreflex Mechanisms. *Clinical and Experimental Hypertension*, 29, 403-418.

- Kida, I. & Yamamoto, T. (2010). Comprehensive correlation between neuronal activity and spin-echo blood oxygenation level-dependent signals in the rat somatosensory cortex evoked by short electrical stimulations at various frequencies and currents. *Brain Research*, 1317, 116-123.
- Kim, D. S., Duong, T. Q. & Kim, S. G. (2000). High-resolution mapping of iso-orientation columns by fMRI. *Nat Neurosci*, 3, 164-169.
- Kim, T., Masamoto, K., Fukuda, M., Vazquez, A. & Kim, S. G. (2010). Frequency-dependent neural activity, CBF, and BOLD fMRI to somatosensory stimuli in isoflurane-anesthetized rats. *Neuroimage*, 52, 224-233.
- Kimme, P., Ledin, T. & Sjöberg, F. (2002). Cortical blood flow autoregulation revisited using laser Doppler perfusion imaging. *Acta Physiol Scand.*, 176, 255-262.
- Koch, S. P., Steinbrink, J., Villringer, A. & Obrig, H. (2006). Synchronization between Background Activity and Visually Evoked Potential Is Not Mirrored by Focal Hyperoxygenation: Implications for the Interpretation of Vascular Brain Imaging. *The Journal of Neuroscience*, 26, 4940-4948.
- Kontos, H. A., Wei, E. P., Navari, R. M., Levasseur, J. E., Rosenblum, W. I. & Patterson, J. L. (1978). Responses of cerebral arteries and arterioles to acute hypotension and hypertension. *American Journal of Physiology - Heart and Circulatory Physiology*, 234, H371-H383.
- Lamour, Y., Guilbaud, G. & Willer, J. C. (1983). Rat somatosensory (SmI) cortex: II. Laminar and columnar organization of noxious and non-noxious inputs. *Experimental Brain Research*, 49, 46-54.
- Lamour, Y., Willer, J. C. & Guilbaud, G. (1983). Rat somatosensory (SmI) cortex: I. Characteristics of neuronal responses to noxious stimulation and comparison with responses to non-noxious stimulation. *Experimental Brain Research*, 49, 35-45.
- Lapirot, O., Chebbi, R., Monconduit, L., Artola, A., Dallel, R. & Luccarini, P. (2009). NK1 receptor-expressing spinoparabrachial neurons trigger diffuse noxious inhibitory controls through lateral parabrachial activation in the male rat. *Pain*, 142, 245-254.
- Lauritzen, M., Mathiesen, C., Schaefer, K. & Thomsen, K. J. (2012). Neuronal inhibition and excitation, and the dichotomic control of brain hemodynamic and oxygen responses. *Neuroimage*, 62, 1040-1050.
- Le Bars, D., Dickenson, A. H. & Besson, J. M. (1979). Diffuse noxious inhibitory controls (DNIC). I. Effects on dorsal horn convergent neurones in the rat. *Pain*, 6, 283-304.

- Le Bars, D., Dickenson, A. H. & Besson, J. M. (1979). Diffuse noxious inhibitory controls (DNIC). II. Lack of effect on non-convergent neurones, supraspinal involvement and theoretical implications. *Pain*, 6, 305-327.
- Le Bars, D. & Willer, J. C. (2008). 5.50 - Diffuse Noxious Inhibitory Controls (DNIC). In E.E. Volume, I, K. Akimichi, M. S. Gordon, W. Gerald, D. A. Thomas, H. M. Richard, D. Peter, O. Donata, F. Stuart, K. B. Gary, M. C. Bushnell, H. K. Jon, & G. Esther (Eds.), *The Senses: A Comprehensive Reference* (pp. 763-773). New York: Academic Press.
- Lee, T. J. F. (2002). Pharmacology and Physiology of Perivascular Nerves Regulating Vascular Function
- Sympathetic Modulation of Nitroergic Neurogenic Vasodilation in Cerebral Arteries. *The Japanese Journal of Pharmacology*, 88, 26-31.
- Lima, D., Albino-Teixeira, A. & Tavares, I. (2002). The caudal medullary ventrolateral reticular formation in nociceptive-cardiovascular integration. An experimental study in the rat. *Exp. Physiol*, 87, 267-274.
- Lindauer, U., Royle, G., Leithner, C., Köhl, M., Gold, L., Gethmann, J. et al. (2001). No Evidence for Early Decrease in Blood Oxygenation in Rat Whisker Cortex in Response to Functional Activation. *Neuroimage*, 13, 988-1001.
- Lippert, M. T., Steudel, T., Ohl, F., Logothetis, N. K. & Kayser, C. (2010). Coupling of neural activity and fMRI-BOLD in the motion area MT. *Magnetic Resonance Imaging*, 28, 1087-1094.
- Loeser, J. D. & Treede, R. D. (2008). The Kyoto protocol of IASP Basic Pain Terminology. *Pain*, 137, 473-477.
- Logothetis, N. K. (2002). The neural basis of the blood-oxygen-level-dependent functional magnetic resonance imaging signal. *Philos. Trans. R. Soc. Lond B Biol. Sci.*, 357, 1003-1037.
- Logothetis, N. K., Pauls, J., Augath, M., Trinath, T. & Oeltermann, A. (2001). Neurophysiological investigation of the basis of the fMRI signal. *Nature*, 412, 150-157.
- Logothetis, N. K. & Pfeuffer, J. (2004). On the nature of the BOLD fMRI contrast mechanism. *Magn Reson. Imaging*, 22, 1517-1531.
- Lorthois, S., Cassot, F. & Lauwers, F. (2011). Simulation study of brain blood flow regulation by intra-cortical arterioles in an anatomically accurate large human vascular network. Part II: Flow variations induced by global or localized modifications of arteriolar diameters. *Neuroimage*, 54, 2840-2853.

- Lübbbers, D. W. & Baumgartl, H. (1997). Heterogeneities and profiles of oxygen pressure in brain and kidney as examples of the pO₂ distribution in the living tissue. *Kidney International*, 51, 372-380.
- Luo, W., Li, P., Chen, S., Zeng, S. & Luo, Q. (2007). Differentiating hemodynamic responses in rat primary somatosensory cortex during non-noxious and noxious electrical stimulation by optical imaging. *Brain Research*, 1133, 67-77.
- Luo, W., Pengcheng, L., Shangbin, C., Shaoqun, Z. & Qingming, L. (2006). Surrounding Inhibition in Rat Somatosensory Cortex During Noxious Electrical Stimulation of the Sciatic Nerve. In *Engineering in Medicine and Biology Society, 2005. IEEE-EMBS 2005. 27th Annual International Conference of the* (pp. 1777-1779).
- Madsen, P. L., Cruz, N. F., Sokoloff, L. & Dienel, G. A. (1999). Cerebral Oxygen/Glucose Ratio is Low During Sensory Stimulation and Rises Above Normal During Recovery[colon] Excess Glucose Consumption During Stimulation Is Not Accounted for by Lactate Efflux From or Accumulation in Brain Tissue. *J Cereb Blood Flow Metab*, 19, 393-400.
- Magri, C., Logothetis, N. K. & Panzeri, S. (2011). Investigating static nonlinearities in neurovascular coupling. *Magnetic Resonance Imaging*, 29, 1358-1364.
- Maier, A., Wilke, M., Aura, C., Zhu, C., Ye, F. Q. & Leopold, D. A. (2008). Divergence of fMRI and neural signals in V1 during perceptual suppression in the awake monkey. *Nat Neurosci*, 11, 1193-1200.
- Malonek, D., Dirnagl, U., Lindauer, U., Yamada, K., Kanno, I. & Grinvald, A. (1997). Vascular imprints of neuronal activity: relationships between the dynamics of cortical blood flow, oxygenation, and volume changes following sensory stimulation. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A*, 94, 14826-14831.
- Malonek, D. & Grinvald, A. (1996). Interactions between electrical activity and cortical microcirculation revealed by imaging spectroscopy: implications for functional brain mapping. *Science*, 272, 551-554
- Mandeville, J. B., Marota, J. J. A., Kosofsky, B. E., Keltner, J. R., Weissleder, R., Rosen, B. R. et al. (1998). Dynamic functional imaging of relative cerebral blood volume during rat forepaw stimulation. *Magnetic Resonance in Medicine*, 39, 615-624.
- Martindale, J., Berwick, J., Martin, C., Kong, Y., Zheng, Y. & Mayhew, J. (2005). Long duration stimuli and nonlinearities in the neural-haemodynamic coupling. *Journal of cerebral Blood flow and Metabolism*, 25, 651-661.

- Martindale, J., Mayhew, J., Berwick, J., Jones, M., Martin, C., Johnston, D. et al. (2003). The hemodynamic impulse response to a single neural event. *J Cereb. Blood Flow Metab*, 23, 546-555.
- Matsuura, T. & Kanno, I. (2001). Quantitative and temporal relationship between local cerebral blood flow and neuronal activation induced by somatosensory stimulation in rats. *Neuroscience Research*, 40, 281-290.
- Mayhew, J., Johnston, D., Martindale, J., Jones, M., Berwick, J. & Zheng, Y. (2001). Increased Oxygen Consumption Following Activation of Brain: Theoretical Footnotes Using Spectroscopic Data from Barrel Cortex. *Neuroimage*, 13, 975-987.
- Mitzdorf, U. (1987). Properties of the Evoked Potential Generators: Current Source-Density Analysis of Visually Evoked Potentials in the Cat Cortex. *International Journal of Neuroscience*, 33, 33-59.
- Morato, M., Pinho, D., Sousa, T., Tavares, I. & Albino-Teixeira, A. n. (2006). Inhibition of nociceptive responses of spinal cord neurones during hypertension involves the spinal GABAergic system and a pain modulatory center located at the caudal ventrolateral medulla. *Journal of Neuroscience Research*, 83, 647-655.
- Nemoto, M., Hoshi, Y., Sato, C., Iguchi, Y., Hashimoto, I., Kohno, E. et al. (2012). Diversity of neural hemodynamic relationships associated with differences in cortical processing during bilateral somatosensory activation in rats. *Neuroimage*, 59, 3325-3338.
- Nemoto, M., Sheth, S., Guiou, M., Pouratian, N., Chen, J. W. Y. & Toga, A. W. (2004). Functional Signal- and Paradigm-Dependent Linear Relationships between Synaptic Activity and Hemodynamic Responses in Rat Somatosensory Cortex. *The Journal of Neuroscience*, 24, 3850-3861.
- Ngai, A. C., Jolley, M. A., D'Ambrosio, R., Meno, J. R. & Winn, H. R. (1999). Frequency-dependent changes in cerebral blood flow and evoked potentials during somatosensory stimulation in the rat. *Brain Research*, 837, 221-228.
- Nilsson, G. (1984). Signal processor for laser Doppler tissue flowmeters. *Medical and Biological Engineering and Computing*, 22, 343-348.
- Noguchi, E., Ohsawa, H., Kobayashi, S., Shimura, M., Uchida, S. & Sato, Y. (1999). The effect of electro-acupuncture stimulation on the muscle blood flow of the hindlimb in anesthetized rats. *Journal of the Autonomic Nervous System*, 75, 78-86.

- Norup, N. A. & Lauritzen, M. (2001). Coupling and uncoupling of activity-dependent increases of neuronal activity and blood flow in rat somatosensory cortex. *J Physiol*, 533, 773-785.
- Ogawa, S., Lee, T. M., Kay, A. R. & Tank, D. W. (1990). Brain magnetic resonance imaging with contrast dependent on blood oxygenation. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A*, 87, 9868-9872.
- Petersen, E. C. (2011). Regulation of Cerebral Blood Flow. *International Journal of Vascular Medicine*, 2011.
- Peyron, R., Laurent, B. & Garcia-Larrea, L. (2000). Functional imaging of brain responses to pain. A review and meta-analysis (2000). *Neurophysiol.Clin.*, 30, 263-288.
- Piché, M., Arsenault, M. & Rainville, P. (2009). Cerebral and cerebrospinal processes underlying counterirritation analgesia. *Journal of Neuroscience*, 29, 14236-14246.
- Piché, M., Uchida, S., Hara, S., Aikawa, Y. & Hotta, H. (2010). Modulation of somatosensory-evoked cortical blood flow changes by GABAergic inhibition of the nucleus basalis of Meynert in urethane-anaesthetized rats. *J.Physiol*, 588, 2163-2171.
- Qiao, M., Rushforth, D., Wang, R., Shaw, R. A., Tomanek, B., Dunn, J. F. et al. (2006). Blood-oxygen-level-dependent magnetic resonance signal and cerebral oxygenation responses to brain activation are enhanced by concurrent transient hypertension in rats. *J Cereb Blood Flow Metab*, 27, 1280-1289.
- Raichle, M. E. & Mintun, M. A. (2006). Brain Work and Brain Imaging. *Annual Review of Neuroscience*.
- Raichle, M. E. (1998). Behind the scenes of functional brain imaging: A historical and physiological perspective. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 95, 765-772.
- Randich, A. & Maixner, W. (1984). Interactions between cardiovascular and pain regulatory systems. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 8, 343-367.
- Randich, A. & Robertson, J. D. (1994). Spinal nociceptive transmission in the spontaneously hypertensive and Wistar-Kyoto normotensive rat. *Pain*, 58, 169-183.
- Rosengarten, B., Huwendiek, O. & Kaps, M. (2001). Neurovascular coupling and cerebral autoregulation can be described in terms of a control system. *Ultrasound Med.Biol.*, 27, 189-193.

- Rother, J., Knab, R., Hamzei, F., Fiehler, J., Reichenbach, J. R., Buchel, C. et al. (2002). Negative dip in BOLD fMRI is caused by blood flow-oxygen consumption uncoupling in humans. *Neuroimage*, 15, 98-102.
- Roy, C. S. & Sherrington, C. S. (1890). On the regulation of the blood-supply of the brain. *J Physiol* 11, 85-108.
- Rudzinski, W., Swiat, M., Tomaszewski, M. & Krejza, J. (2007). Cerebral hemodynamics and investigations of cerebral blood flow regulation. *Nuclear Medicine Review. Central & Eastern Europe*, 10, 29-42.
- Sato, A. (1997). Neural mechanisms of autonomic responses elicited by somatic sensory stimulation. *Neurosci. Behav. Physiol*, 27, 610-621.
- Sato, A., Sato, Y. & Schmidt, R. F. (1997). The impact of somatosensory input on autonomic functions. *Rev. Physiol Biochem. Pharmacol.*, 130, 1-328.
- Schouenborg, J., Kalliomäki, J., Gustavsson, P. & Rosen, I. (1986). Field potentials evoked in rat primary somatosensory cortex (SI) by impulses in cutaneous A₊- and C-fibres. *Brain Research*, 397, 86-92.
- Schwartz, T. H. & Bonhoeffer, T. (2001). In vivo optical mapping of epileptic foci and surround inhibition in ferret cerebral cortex. *Nature Medicine*, 7, 1063-1067.
- Shaw, F. Z., Chen, R. F., Tsao, H. W. & Yen, C. T. (1999). Comparison of touch- and laser heat-evoked cortical field potentials in conscious rats. *Brain Research*, 824, 183-196.
- Sheth, S., Nemoto, M., Guiou, M., Walker, M., Pouratian, N. & Toga, A. W. (2003). Evaluation of coupling between optical intrinsic signals and neuronal activity in rat somatosensory cortex. *Neuroimage*, 19, 884-894.
- Sheth, S. A., Nemoto, M., Guiou, M., Walker, M., Pouratian, N. & Toga, A. W. (2004). Linear and nonlinear relationships between neuronal activity, oxygen metabolism, and hemodynamic responses. *Neuron*, 42, 347-355.
- Shih, Y. Y., Wey, H. Y., De La Garza, B. H. & Duong, T. Q. (2011). Striatal and cortical BOLD, blood flow, blood volume, oxygen consumption, and glucose consumption changes in noxious forepaw electrical stimulation. *J Cereb Blood Flow Metab*, 31, 832-841.
- Sitsen, J. M. & de Jong, W. (1983). Hypoalgesia in genetically hypertensive rats (SHR) is absent in rats with experimental hypertension. *Hypertension*, 5, 185-190.

- Sokoloff, L. (1977). Relations between physiological function and energy metabolism in the central nervous system. *Journal of Neurochemistry*, 29, 13-26.
- Stefanovic, B., Warnking, J. M. & Pike, G. B. (2004). Hemodynamic and metabolic responses to neuronal inhibition. *Neuroimage*, 22, 771-778.
- Tavares, I., Almeida, A., Albino-Teixeira, A. & Lima, D. (1997). Lesions of the caudal ventrolateral medulla block the hypertension-induced inhibition of noxious-evoked c-fos expression in the rat spinal cord. *European Journal of Pain*, 1, 149-160.
- Thompson, J. K., Peterson, M. R. & Freeman, R. D. (2003). Single-neuron activity and tissue oxygenation in the cerebral cortex. *Science (New York, N.Y.)*, 299, 1070-1072.
- Toda, N., Ayajiki, K. & Okamura, T. (2009). Cerebral Blood Flow Regulation by Nitric Oxide: Recent Advances. *Pharmacological Reviews*, 61, 62-97.
- Tracey, I., Becerra, L., Chang, I., Breiter, H., Jenkins, L., Borsook, D. et al. (2000). Noxious hot and cold stimulation produce common patterns of brain activation in humans: a functional magnetic resonance imaging study. *Neuroscience Letters*, 288, 159-162.
- Tracey, I. & Mantyh, P. W. (2007). The cerebral signature for pain perception and its modulation. *Neuron*, 55, 377-391.
- Tuor, U. I. (1992). Acute hypertension and sympathetic stimulation: local heterogeneous changes in cerebral blood flow. *American Journal of Physiology - Heart and Circulatory Physiology*, 263, H511-H518.
- Tuor, U. I., McKenzie, E. & Tomanek, B. (2002). Functional magnetic resonance imaging of tonic pain and vasopressor effects in rats. *Magnetic Resonance Imaging*, 20, 707-712.
- Ureshi, M., Kershaw, J. & Kanno, I. (2005). Nonlinear correlation between field potential and local cerebral blood flow in rat somatosensory cortex evoked by changing the stimulus current. *Neuroscience Research*, 51, 139-145.
- Vanzetta, I., Flynn, C., Ivanov, A. I., Bernard, C. & Bénar, C. G. (2010). Investigation of Linear Coupling Between Single-Event Blood Flow Responses and Interictal Discharges in a Model of Experimental Epilepsy. *Journal of Neurophysiology*, 103, 3139-3152.
- Vanzetta, I. & Grinvald, A. (2001). Evidence and Lack of Evidence for the Initial Dip in the Anesthetized Rat: Implications for Human Functional Brain Imaging. *Neuroimage*, 13, 959-967.

- Vanzetta, I. & Grinvald, A. (2008). Coupling between neuronal activity and microcirculation: Implications for functional brain imaging. *HFSP Journal*, 2, 79-98.
- Villanueva, L., Bouhassira, D. & Le Bars, D. (1996). The medullary subnucleus reticularis dorsalis (SRD) as a key link in both the transmission and modulation of pain signals. *Pain*, 67, 231-240.
- Viswanathan, A. & Freeman, R. D. (2007). Neurometabolic coupling in cerebral cortex reflects synaptic more than spiking activity. *Nat Neurosci*, 10, 1308-1312.
- Wang, R., Foniok, T., Wamsteeker, J. I., Qiao, M., Tomanek, B., Vivanco, R. A. et al. (2006). Transient blood pressure changes affect the functional magnetic resonance imaging detection of cerebral activation. *Neuroimage*, 31, 1-11.
- Zamir, N. & Maixner, W. (1986). The Relationship between Cardiovascular and Pain Regulatory Systems. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 467, 371-384.
- Zhao, F., Welsh, D., Williams, M., Coimbra, A., Urban, M. O., Hargreaves, R. et al. (2012). fMRI of pain processing in the brain: A within-animal comparative study of BOLD vs. CBV and noxious electrical vs. noxious mechanical stimulation in rat. *Neuroimage*, 59, 1168-1179.
- Zhao, M., Nguyen, J., Ma, H., Nishimura, N., Schaffer, C. B. & Schwartz, T. H. (2011). Preictal and Ictal Neurovascular and Metabolic Coupling Surrounding a Seizure Focus. *The Journal of Neuroscience*, 31, 13292-13300.
- Zheng, Y., Martindale, J., Johnston, D., Jones, M., Berwick, J. & Mayhew, J. (2002). A model of the hemodynamic response and oxygen delivery to brain. *Neuroimage*, 16, 617-637.
- Zheng, Y., Pan, Y., Harris, S., Billings, S., Coca, D., Berwick, J. et al. (2010). A dynamic model of neurovascular coupling: Implications for blood vessel dilation and constriction. *Neuroimage*, 52, 1135-1147.
- Zong, X., Kim, T. & Kim, S. G. (2012). Contributions of dynamic venous blood volume versus oxygenation level changes to BOLD fMRI. *Neuroimage*, 60, 2238-2246.
- Zonta, M., Angulo, M. C., Gobbo, S., Rosengarten, B., Hossmann, K. A., Pozzan, T. et al. (2003). Neuron-to-astrocyte signaling is central to the dynamic control of brain microcirculation. *Nat Neurosci*, 6, 43-50.